

STRUKTUR-WIRKUNGS-UNTERSUCHUNGEN
AN KONFIGURATIONISOMEREN OXIMEN
2-ACYLIERTER PYRIDINIUMVERBINDUNGEN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Gerhard Rieß
aus Rotenburg/F.

Düsseldorf 1987

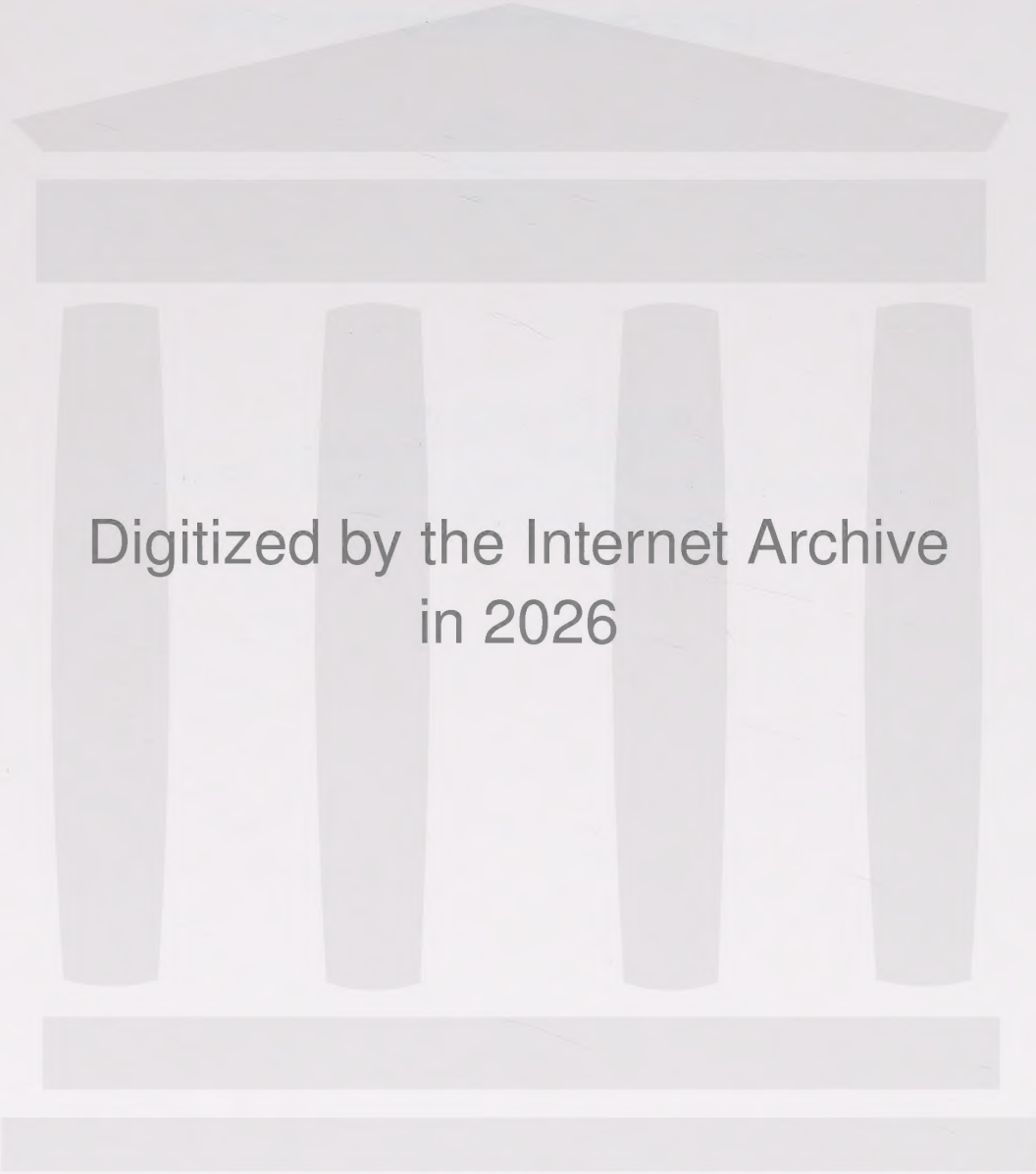


STRUKTUR-WIRKUNGS-UNTERSUCHUNGEN
AN KONFIGURATIONISOMEREN OXIMEN
2-ACYLIERTER PYRIDINIUMVERBINDUNGEN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Gerhard Rieß
aus Rotenburg/F.

Düsseldorf 1987



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548820_0002

Tag der mündlichen Prüfung: 25. Juni 1987

1. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Weber

2. Berichterstatter: Prof. Dr. H.D. Martin

Die vorliegende Arbeit wurde unter Anleitung von

Herrn Professor Dr. Horst Weber

am Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Düsseldorf angefertigt. Für die großzügige Unterstützung und stete Förderung meiner Arbeit danke ich Herrn Prof. Weber sehr herzlich.

INHALTSVERZEICHNIS

Inhaltsverzeichnis

Seite

1.	Einleitung und Vorbemerkungen	1
2.	Allgemeine Darstellung des Systems von Zahlen	3
2.1.	Darstellung der natürlichen Zahlen	3
2.2.	Teiler und Primzahlen	10
2.3.	Stichworte und Zusammenhänge	14
2.3.1.	Für	14
2.3.2.	Gabriele und	14
2.3.3.	Christoph	14
2.3.4.		14
2.3.5.		14
2.3.6.		14
2.3.7.		14
2.3.8.		14
2.3.9.		14
2.3.10.		14
2.3.11.		14
2.3.12.		14
2.3.13.		14
2.3.14.		14
2.3.15.		14
2.3.16.		14
2.3.17.		14
2.3.18.		14
2.3.19.		14
2.3.20.		14
2.3.21.		14
2.3.22.		14
2.3.23.		14
2.3.24.		14
2.3.25.		14
2.3.26.		14
2.3.27.		14
2.3.28.		14
2.3.29.		14
2.3.30.		14
2.3.31.		14
2.3.32.		14
2.3.33.		14
2.3.34.		14
2.3.35.		14
2.3.36.		14
2.3.37.		14
2.3.38.		14
2.3.39.		14
2.3.40.		14
2.3.41.		14
2.3.42.		14
2.3.43.		14
2.3.44.		14
2.3.45.		14
2.3.46.		14
2.3.47.		14
2.3.48.		14
2.3.49.		14
2.3.50.		14
2.3.51.		14
2.3.52.		14
2.3.53.		14
2.3.54.		14
2.3.55.		14
2.3.56.		14
2.3.57.		14
2.3.58.		14
2.3.59.		14
2.3.60.		14
2.3.61.		14
2.3.62.		14
2.3.63.		14
2.3.64.		14
2.3.65.		14
2.3.66.		14
2.3.67.		14
2.3.68.		14
2.3.69.		14
2.3.70.		14
2.3.71.		14
2.3.72.		14
2.3.73.		14
2.3.74.		14
2.3.75.		14
2.3.76.		14
2.3.77.		14
2.3.78.		14
2.3.79.		14
2.3.80.		14
2.3.81.		14
2.3.82.		14
2.3.83.		14
2.3.84.		14
2.3.85.		14
2.3.86.		14
2.3.87.		14
2.3.88.		14
2.3.89.		14
2.3.90.		14
2.3.91.		14
2.3.92.		14
2.3.93.		14
2.3.94.		14
2.3.95.		14
2.3.96.		14
2.3.97.		14
2.3.98.		14
2.3.99.		14
2.3.100.		14

INHALTSVERZEICHNIS

=====

	<u>Theoretischer Teil</u>	<u>Seite</u>
1.	Einleitung und Problemstellung	4
2.	Allgemeine Darstellungswege von Oximen	5
2.1.	Darstellung der isomeren 2-Acylpyridin-oxime	7
2.2.	Trennung der (E)- und (Z)-Gemische	10
2.3.	Spektroskopische Untersuchungen der 2-Acylpyridinoxime <u>2</u>	14
2.3.1.	UV - Spektroskopie	14
2.3.2.	IR - Spektroskopie	16
2.3.3.	¹ H-NMR - Spektroskopie	21
2.4.	Beckmann-Umlagerung der konfigurations-isomeren 2-Pyridyl-ketoxime <u>2b</u> - <u>2f</u>	27
3.	Stereoisomere Oxime der 2-Acyl-N-methyl-pyridiniumsalze	45
3.1.	Darstellung der Ketoxime	46
3.2.	Darstellung von (Z)-2-PAM	47
3.2.1.	Versuche zur Synthese von (Z)- <u>16a</u> durch Quaternisierung von (Z)- <u>2a</u>	48
3.2.2.	Versuche der Silylierung von (Z)- <u>2a</u>	54
3.2.3.	Oximierung von 2-Formyl-1-methyl-pyridiniumjodid	55
3.2.4.	Photoisomerisierung von (E)-2-PAM	56
3.3.	Trennung des Photolysegemisches aus (E)-2-PAM und (Z)-2-PAM	59
3.4.	Spektroskopische Untersuchungen der 2-Acyl-pyridiniumsalze <u>16</u>	60

3.4.1.	UV - Spektroskopie	60
3.4.2.	IR - Spektroskopie	70
3.4.3.	¹ H-NMR - Spektroskopie	70
3.5.	Stabilität des (Z)-2-PAM	74
4.	O-Ester des (E)-2-PAM und verwandter Oxime von Acylpyridiniumsalzen	77
4.1.	Darstellung des O-Benzoesäureesters von (E)- <u>16b</u>	83
4.2.	Darstellung der O-Benzoesäureester von (E)-2-PAM und (E)-4-PAM	83
4.3.	Stabilitätsuntersuchungen der O-Benzoe- säureester (E)- <u>26</u>	84
4.4.	Analytik der Zerfallsprodukte	88
4.4.1.	Analytik der Zerfallsprodukte von (E)- <u>26b</u>	89
4.4.2.	Analytik der Zerfallsprodukte von (E)- - <u>26a</u> und (E)- <u>26c</u>	91
5.	Giftungs- und Reaktivierungsreaktion an der Acetylcholinester-Hydrolase (AChE)	101
5.1.	AChE-Rezeptortheorie	101
5.2.	Giftung durch Organophosphäte	105
5.3.	Möglichkeiten der Reaktivierung	106
5.4.	In-vitro Testung von möglichen Antidot- substanzen	111
5.5.	Auswertung der in-vitro Untersuchungen	112
6.	Zusammenfassung	117

Experimenteller Teil

1.	Beschreibung der Versuche	121
2.	Lebenslauf	170



1. Einleitung und Problemstellung

Reaktivatorsubstanzen für die Organophosphat-gehemmte Acetylcholinesterase sind wichtig für die Humanmedizin, wie ihre Anwendung nach Unfällen, Suiziden und auch nach dem Einsatz von C-Waffen zeigt. Durch das von WILSON et al. 68,69) entdeckte (E)-Pralidoxim ((E)-PAM) gelangte erstmals eine Reaktivatorsubstanz zur kausaltherapeutischen Anwendung. Eine eindrucksvolle Verbesserung gelang LÜTTRINGHAUS und HAGEDORN 146) durch die Synthese von Obidoxim, welches als Toxogonin^R im Handel ist.

Die Reaktivierung soll nach einem Postulat von HAGEDORN durch β -cis-Eliminierung intermediär gebildeter Aldoximester (Aldoximphosphate) erfolgen.

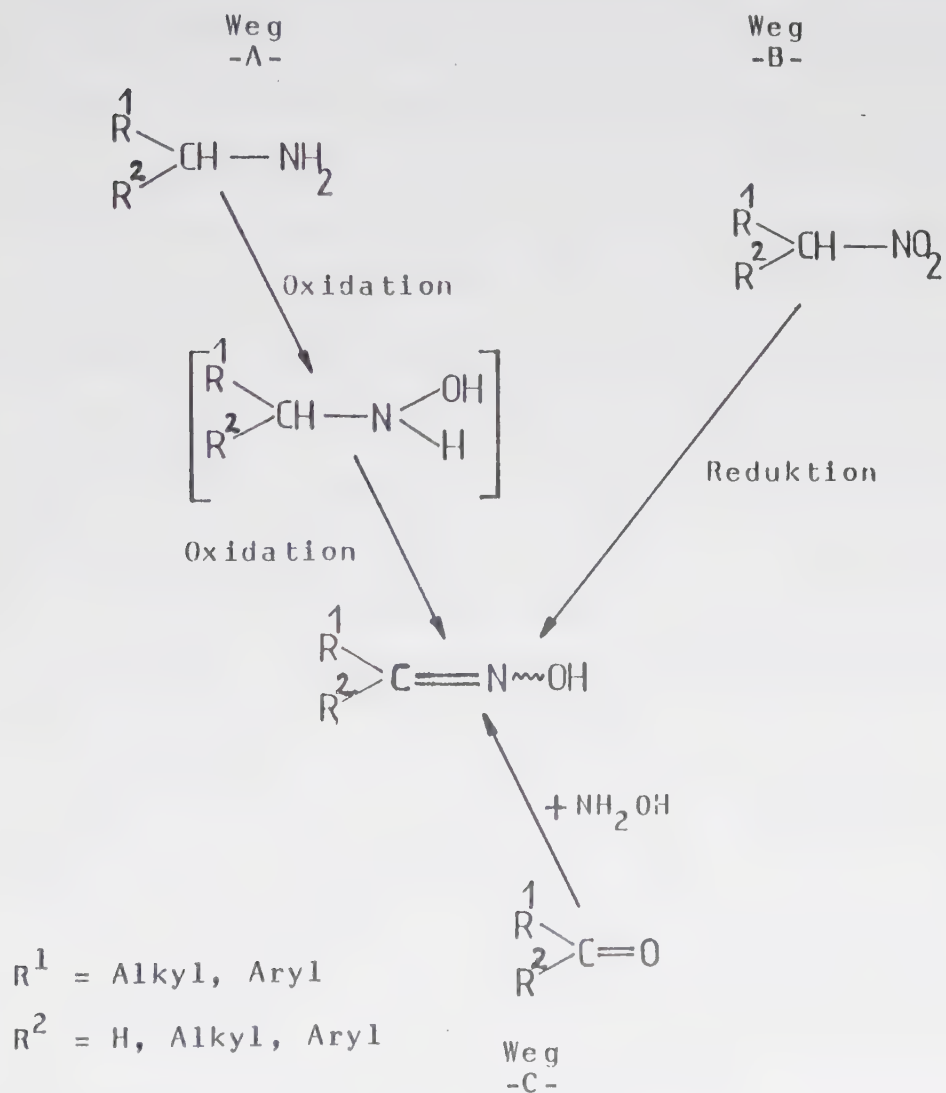
Nach Befunden von WEBER 29) stellte sich jedoch die Frage, ob nur solche Pyridiniumoxime für die Reaktivierung geeignet sind, bei denen eine β -cis-Eliminierung des Aldoximphosphates möglich ist, denn die Untersuchung des (Z)-2-PAM stand noch aus. Auch konnte nicht ausgeschlossen werden, daß geeignet konfigurierte Pyridinium-ketoxime als Reaktivatoren in Frage kommen, denn die seither getesteten und als ungeeignet bezeichneten Verbindungen aus dieser Reihe lagen zumindest überwiegend in der "falschen" (Z)-Konfiguration vor.

Daraus ergab sich die Problemstellung dieser Arbeit:

1. Herstellung des (Z)-2-PAM in einer für die Testung ausreichenden Menge.
2. Darstellung einer Reihe von Ketoximsalzen in beiden möglichen Konfigurationen.
3. Eindeutige Strukturabsicherung der Testsubstanzen durch spektroskopische Verfahren und Derivatisierungsreaktionen.
4. In-vitro Testung der Modellsubstanzen am Paraoxon-gehemmten Enzym Acetylcholinester-Hydrolase.

2. Allgemeine Darstellungswege von Oximen

In der Literatur wird eine Vielzahl von Methoden zur Darstellung von Oximen beschrieben (1-2).



1) B. Unterhalt in Methodicum Chemicum, Bd. 6, S. 414 ff, Georg-Thieme-Verlag Stuttgart 1974

2) H. Metzger in Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl), Bd. 10/4, S. 294 ff, Georg-Thieme-Verlag Stuttgart 1968

So werden durch Oxidation primärer Amine, deren Aminogruppe an einem primären bzw. sekundären Kohlenstoffatom haftet, über die Stufe der Hydroxylamine Aldoxime bzw. Ketoxime erhalten ³⁻⁶⁾ (Weg A).

Dabei können jedoch Nebenreaktionen nicht ausgeschlossen werden ⁷⁾.

Nitroalkene gehen mit gebräuchlichen Reduktionsmitteln (nascierender Wasserstoff, Zinn(II)-chlorid) durch Reduktion in gesättigte Oxime über ⁸⁾.

In Gegenwart von Eisen(II)-chlorid oder -sulfat gelingt die Reduktion von primären und sekundären Nitroverbindungen zu Oximen ¹⁻²⁾ (Weg B). Während diese Reduktion in stark saurem Milieu durchgeführt wird, wird die Reduktion von Nitroverbindungen durch Arsen(III)-, Antimon(III)- sowie Zinn(II)-oxid im alkalischen Milieu beschrieben ⁹⁾.

Die am häufigsten angewandte Methode zur Synthese von Oximen ist jedoch der Ersatz des Carbonylsauerstoffes durch die Hydroxyiminogruppe (Weg C).

3) P. Burckard, J.P. Fleury, F. Weiss, Bull.Soc.Chim. Fr. 2730 (1965)

4) E. Müller, H. Metzger, D. Fries, Chem.Ber. 87, 1456 (1954)

5) K. Kahr, Angew.Chem. 72, 135 (1960)

6) K. Kahr, C. Berther, Chem.Ber. 93, 132 (1960)

7) E. Bamberger, Ber.Dtsch.Chem.Ges. 44, 3069 (1911)

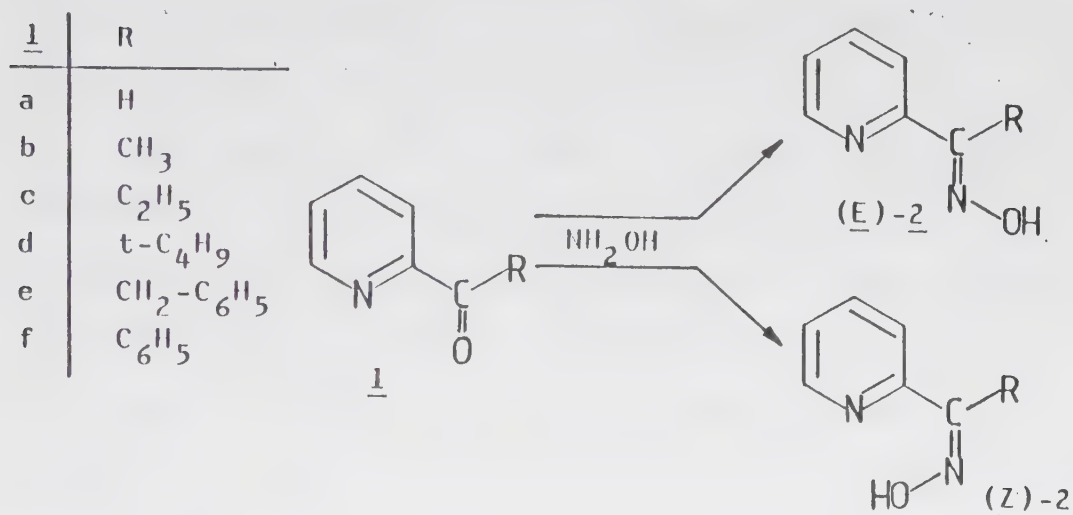
8) A. Dornow, A. Müller, Chem.Ber. 93, 32 (1960)

9) S.C. Termin, M. Levine, C.A. 52, 9202ⁱ (1958)

2.1. Darstellung der isomeren 2-Acylpyridinóxime

Da die 2-Acylpyridine 1 gut zugänglich sind, bot sich der Weg C für die Synthese der Oxime 2 an.

So liefern die 2-Acylpyridine 1a, 1b, 1c und 1e bei der Umsetzung mit Hydroxylamin in wäßrigem Alkali jedoch nur einheitliche Oxime 2, denen nach allgemeiner Auffassung ¹⁰⁻¹³⁾ die (E)-Konfiguration zukommt ¹⁴⁾.



Lediglich bei Einsatz von 1d ¹⁵⁾ und 1f ¹⁶⁻¹⁸⁾ entstehen nach dieser Methode (Weg C) Gemische der stereoisomeren Oxime: bei 2d entsteht hauptsächlich

-
- 10) E.J. Pozniomek, D.N. Kramer, Abstr.Pap. 138th
Meeting Am.Chem.Soc. (1960)
- 11) E.J. Pozniomek, D.N. Kramer, W. Fromm, W.A. Mosher,
J.Org.Chem. 26, 423 (1961)
- 12) E.J. Pozniomek, H.O. Michel, J.Am.Chem.Soc. 83,
3916 (1961)
- 13) E.J. Pozniomek, J.Pharm.Sci. 54, 333 (1965)

das Z-isomere Oxim (90 %), während bei 2f ungefähr ein 1:1 Isomerengemisch resultiert ¹⁸⁾.

Deshalb hatten POZIOMEK und VAUGHAN ¹⁹⁾ als erste versucht, die konfigurationsisomere Verbindung des Aldoxims 2a darzustellen. Sie synthetisierten durch thermische Belastung des bei der Oximierung von 1a erhaltenen einheitlichen Aldoxims 2a ein Isomerengemisch, aus dem ihnen durch Säulenchromatographie an Aerosil die Isolierung einer isomeren Verbindung gelang, der sie auf Grund des IR-Spektrums die (Z)-Konfiguration zuschrieben.

Die Synthese des Aldoxims 2a gelingt auch durch Umsetzung von Picolyl-Kalium mit Amylnitrit in flüssigem Ammoniak ²⁰⁾ oder mit besseren Ausbeuten durch Verwendung von n-Butylnitrit bei Raumtemperatur ²¹⁾.

Dagegen konnten SOMIN und Mitarbeiter durch sorgfältige Aufarbeitung eines derartigen n-Butylnitritansatzes ein Isomerengemisch von 2a darstellen, dessen Trennung in die reinen Stereoisomere durch fraktionierte Fällung aus wäßriger Lösung bei verschiedenen pH-Werten gelang ²²⁾.

14) J.E. Blackwood, C.L. Gladys, K.L. Loening, A.E.

Petrarca, J.R. Rush, J.Am.Chem.Soc. 90, 509 (1968)

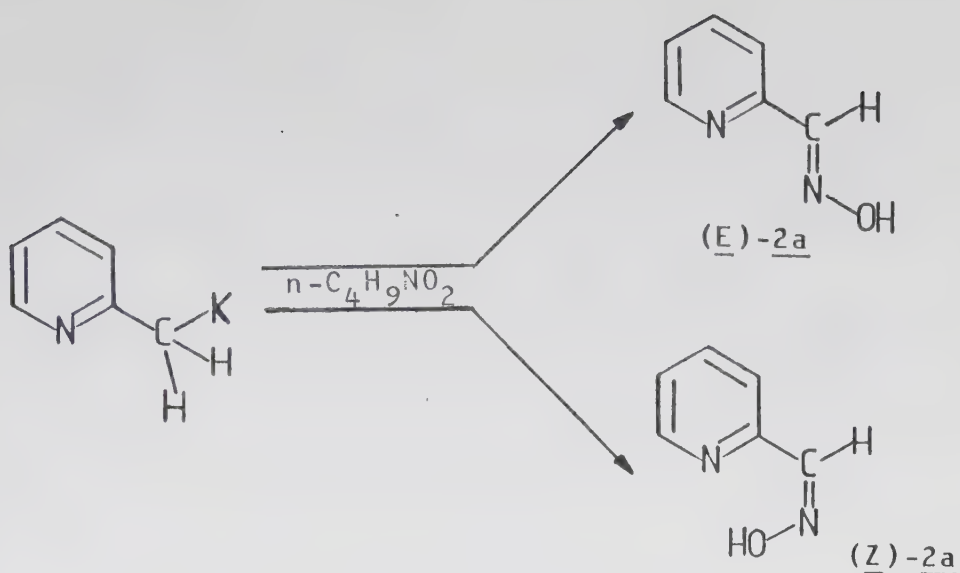
15) E. Niemers, R. Hiltmann, Synthesis 9, 593 (1976)

16) A. Tschitschibabin, C. 73, 206 (1902)

17) T. Tschugaeff, Ber.Dtsch.Chem.Ges. 39, 3382 (1906)

18) E.H. Huntress, H.G. Walter, J.Am.Chem.Soc. 70, 3702 (1948)

19) E.J. Poziomek, L.G. Vaughan, J.Pharm.Sci. 54, 811 (1965)



Den beiden Isomeren von 2a wurde zum Teil eine widersprüchliche Konfiguration ²³⁻²⁴⁾ zugeordnet, was sich einerseits auf die Instabilität des Aldoxims 2a ²⁵⁾, andererseits auf die Verwendung einer inkonsequenten Nomenklatur zurückführen läßt ²¹⁾.

Im Gegensatz dazu sind die 2-Pyridyl-ketoxime 2b, 2c und 2e bisher nur in einer Form bekannt, der

-
- 20) T. Kato, Y. Goto, T. Chiba, Chem.Pharm.Bull. (Tokyo), 11, 461 (1963)
- 21) S. E. Forman, J. Org.Chem. 29, 3323 (1964)
- 22) I.N. Somin, N.I. Shapranova, Khim.Geterotsikl. Soedin, 11, 1573 (1976)
- 23) I.B. Wilson, S. Ginsburg, Biochem.Biophys.Acta 18, 168 (1955)
- 24) S. Ginsburg, I.B. Wilson, J.Am.Chem.Soc. 79, 481 (1957)
- 25) L. Larson, G. Wallersberg, Acta Chem.Scand. 16, 788 (1962)
- 26) T. Kato, Y. Goto, Yagugaku Zasshi 85, 451 (1965)
- 27) T. Kato, Y. Goto, Yagugaku Zasshi 86, 1022 (1966)

die (E)-Konfiguration zugeschrieben wird ²⁶⁾. Eine sichere Konfigurationszuordnung durch Beckmann-Umlagerung war bislang allerdings nur für die Ketoxime 2b und 2e ²⁷⁻²⁸⁾ und 2f ¹⁸⁾ versucht worden.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte zur Darstellung sterisch einheitlicher N-alkylierter-2-(1-hydroxyiminoalkyl)-substituierter Pyridiniumsalze zunächst die Quaternisierung des Pyridinstickstoffes der entsprechenden Oxime 2 versucht werden. Dazu wurden die Verbindungen 2a - 2f in beiden Konfigurationen und präparativ ausreichender Menge benötigt ²⁹⁾.

2.2. Trennung der (E) - und (Z) - Gemische

Da die benötigten stereoisomeren Oxime 2a - 2f also nicht oder nur unzureichend direkt zugänglich waren, wurden die bei der Synthese nach Weg C erhaltenen Verbindungen mit Ausnahme von 2f einer Photoisomerisierung unterworfen ³⁰⁻³²⁾. Zur Erzielung einer optimalen Ausbeute an den gesuchten Umlagerungsprodukten wurden die Bedingungen der Photoisomerisierung mehrfach variiert: ³²⁾

28) T. Kato, Y. Goto, T. Chiba, Yagugaku Zasshi 87, 689 (1967)

29) H. Weber, Arch.Pharm. (Weinheim) 309, 769 (1976)

30) G. Ciamician, P. Silber, Ber.Dtsch.Chem.Ges. 36, 4266 (1903)

31) R. Stoermer, Ber.Dtsch.Chem.Ges. 44, 667 (1911)

32) J.H. Amin, P. DeMayo, Tetrahedron Letters, 1585 (1963)

die besten Ergebnisse wurden mit einem Quecksilber-niederdruckbrenner bei 254 nm erzielt, während die Bestrahlung mit Hochdruckbrennern verschiedener spektraler Zusammensetzung nur zu einem erhöhten Anteil an Zersetzungsprodukten führte.

Der Einfluß des verwendeten Lösungsmittels war bedeutend (Tabelle 1).

Tabelle 1

Isomerenverhältnis der Bestrahlungsansätze
in verschiedenen Lösungsmitteln

<u>2</u>	(E) : (Z) in %				
	Methanol	Ethanol	Puffer pH 7	Ethylacetat	Ether
a	80 : 20	70 : 30	<u>60 : 40</u>	80 : 20	75 : 25
b	85 : 15	80 : 20	<u>55 : 45</u>	85 : 15	85 : 15
c	85 : 15	75 : 25	<u>55 : 45</u>	70 : 30	75 : 25
d	- - -	20 : 80	- - -	40 : 60	<u>45 : 55</u>
e	- - -	80 : 20	- - -	70 : 30	<u>60 : 40</u>

So erwies sich eine wäßrige Pufferlösung (pH 7) als optimal für die Isomerisierung der Oxime 2a-2c, während sich 2d und 2e am besten in Ether umlagerten. Nach etwa vierstündiger Reaktionszeit hatte sich in allen Fällen ein Gleichgewicht zwischen Ausgangs- und Umlagerungsprodukten gebildet. Auch hier führte eine längere Bestrahlung nur zur vermehrten Bildung gelbbraun gefärbter Polymerisate.

Die analytische Kontrolle der Photolyse-Ansätze

wurde mittels DC und ^1H -NMR-Spektroskopie vorgenommen. Die bei der Bestrahlung erhaltenen Isomerengemische konnten weder mit Hilfe der fraktionierten Kristallisation noch durch Säulenchromatographie an Kieselgel, Polyamid oder Aluminiumoxid aufgetrennt werden. Beide Verfahren führten unter Rückisomerisation nur zur Anreicherung der (E)-Oxime 2b, 2c und 2e, während von 2d nur noch die stabilere (Z)-Form aufgearbeitet werden konnte.

Dagegen konnte in Vorversuchen (Schütteltrichter) ermittelt werden, daß die isomeren Oxime ein signifikant unterschiedliches Verteilungsverhalten zwischen den Phasen Wasser / Methanol und Ethylacetat / Petrolether aufwiesen. Deshalb erschien der Einsatz der Gegenstromverteilung ³³⁾ lohnenswert. Nach Optimierung der Lösungsmittelsysteme (Variation der Phasenzusammensetzung ³⁴⁾ sowie 1 % Zusatz von Ammoniak zur Unterphase ³⁵⁾) gelang auf einem CRAIG-Verteiler ³⁶⁾ nach durchschnittlich 150 Verteilschritten zunächst die Trennung der Oxime 2a - 2c.

Die Ketoxime 2d und 2e ließen sich erst nach weiterer Optimierung der Oberphasen fast quantitativ trennen. Die Auftrennung der Oxime in die einzelnen

33) E. Hecker in Verteilungsverfahren im Labor,
Verlag Chemie (Weinheim/Bergstraße) 1955

34) E. Hecker, Z.Anal.Chem. 181, 284 (1961)

35) E. Hecker, Naturwissenschaften 50, 165 (1963)

36) L.C. Craig, Anal.Chem. 22, 1346 (1950)

Verteilungselemente wurde jeweils dc bestimmt (Tabelle 2). Die einheitlichen Oxime wurden aus den Oberphasen der entsprechenden Verteilelemente isoliert und nach mehrmaligem Umkristallisieren analysenrein erhalten.

Tabelle 2

Auftrennung der (E)- und (Z)-Oxime von 2 durch CRAIG - Verteilung

<u>2</u>	Verteilelemente mit		Verteil- schritte
	(<u>Z</u>)-Oxim	(<u>E</u>)-Oxim	
a	25 - 45	50 - 80	100
b	30 - 55	50 - 80	120
c	30 - 50	45 - 75	120
d	50 - 75	80 - 100	160
e	60 - 75	75 - 95	150

Stabilität der isomeren Oxime 2

Vom (Z)-Adoxim 2a war bekannt ²¹⁻²²⁾, daß es in schwach alkalischem Milieu (pH 7-9) am stabilsten ist. Im Einklang damit steht der Befund, daß auch die Stabilität der (Z)-Ketoxime bei pH 8 am größten ist.

In wäßriger Lösung erfolgt eine 50proz. Rückisomerisierung der (Z)-Oxime in die (E)-Form, mit Ausnahme von 2d, in Abhängigkeit vom pH-Bereich:

bei pH 1 nach 1 - 2 Tagen

bei pH 4 nach 2 - 4 Tagen und

bei pH 10 nach 6 Tagen.

Die (E)-Form von 2d ist in wäßriger Lösung allein schon nicht mehr stabil: innerhalb von drei Tagen isomerisiert sie bis zu 50% zurück in die stabilere (Z)-Form.

2.3. Spektroskopische Untersuchungen der 2-Acylpyridinoxime 2.

2.3.1. UV - Spektroskopie

Aus der Tabelle 3 wird deutlich, daß die langwelligen Maxima aller Ketoxime 2 mit (E)-Konfiguration bathochrom gegenüber den (Z)-Formen verschoben sind. Dieser Effekt ist jedoch relativ gering in den Lösungsmitteln Wasser und Methanol, verstärkt sich aber signifikant, mit Ausnahme von 2d, beim Übergang auf das Lösungsmittel 0,1 N Natronlauge.

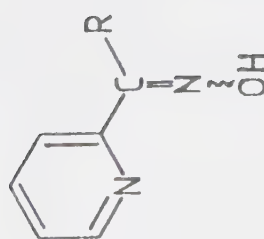
Beim Aldoxim 2a sind diese Unterschiede zwischen (E)- und (Z)-Form geringer und die bathochrome Verschiebung beim Übergang zu 0,1 N Natronlauge ist beim (Z)-Isomeren nur unwesentlich kleiner ($\Delta\lambda=14$ nm) als beim (E)-Isomeren ($\Delta\lambda=17$ nm).

Bei den Ketoximen 2b, 2c und 2e hängt die Größenordnung der bathochromen Verschiebung beim Alkalisieren von der relativen Stellung des Alkylsubstituenten zum Oximatsauerstoff im planaren Chromophor aus Pyridinring und Oximinfunktion ab. Bei cis-Anordnung ist der Effekt groß ($\Delta\lambda>20$ nm), bei trans-Anordnung relativ klein ($\Delta\lambda\sim 10$ nm).

Tabelle 3

Lage der UV-Absorptionsmaxima (nm;lgε)

der isomeren 2-Acylpyridinoxime 2.

		Methanol		Wasser		0,1 N NaOH	
		$\lambda_{\max}^1$	$\lambda_{\max}^2$	$\lambda_{\max}^2$	$\lambda_{\max}^2$	$\lambda_{\max}^2$	$\lambda_{\max}^2$
R=H	(E)-a	242 (3,80)	274 (3,58)	278 (3,56)	295 (4,18)		
	(Z)-a	236 (3,86)	276 (3,52)	276 (3,49)	290 (4,02)		
R=CH ₃	(E)-b	238 (3,75)	269 (3,67)	262 (3,69)	284 (4,05)		
	(Z)-b	228 (3,75)	263 (3,70)	252 (3,71)	261 (3,95)		
R=C ₂ H ₅	(E)-c	240 (3,73)	270 (3,69)	261 (3,69)	283 (3,99)		
	(Z)-c	221 (3,78)	260 (3,68)	253 (3,61)	260 (3,87)		
R=t-C ₄ H ₉	(E)-d	210 (4,10)	259 (3,54)	247 (3,51)	257 (3,56)		
	(Z)-d	205 (3,92)	253 (3,64)	243 (3,60)	252 (3,64)		
R=CH ₂ -C ₆ H ₅	(E)-e	238 (3,89)	267 (3,71)	255 (3,70)	281 (3,89)		
	(Z)-e	236 (3,69)	261 (3,62)	250 (3,61)	260 (3,72)		
R=C ₆ H ₅	(E)-f	226 (3,92)	266 (3,98)	254 (3,81)	277 (3,96)		
	(Z)-f	232 (3,78)	251 (3,94)	243 (3,82)	265 (3,84)		

Beim Ketoxim 2d ist wegen des raumerfüllenden t-Butylsubstituenten diese Koplanarität offenbar weder für die (E)- noch für die (Z)-Form verwirklicht. Daraus ergeben sich zwei Konsequenzen:

1.) beide isomeren Ketoxime 2d absorbieren bei kürzeren Wellenlängen,

2.) die bathochrome Verschiebung beim Alkalisieren ist für beide isomeren Ketoxime 2d etwa gleich groß.

Beim Phenylketoxim 2f tritt nach Dissoziation beider Formen fast dieselbe Rotverschiebung auf ($\Delta\lambda=23$ bzw. 22 nm). Hier ist die relative Position von Aromat oder Heteroaromat zum Oximatsauerstoff von untergeordneter Bedeutung, da beide Substituenten einen vergleichbaren Einfluß ausüben.

2.3.2. IR - Spektroskopie

Die Banden für die Oxim-OH-Valenzschwingungen der Oxime 2 sind bei Aufnahme von KBr-Spektren nur sehr schwach ausgeprägt ³⁷⁻³⁹⁾. Durch sie ist eine Konfigurationszuordnung der isomeren Oxime 2 nicht möglich. Zur Konfigurationsbestimmung sollen jedoch die OH-Deformationsbanden in KBr dienen können ⁴⁰⁾.

37) A. Palm, H. Werbin, Canad.J.Chem. 31, 1004 (1953)

38) A. Palm, H. Werbin, Canad.J.Chem. 32, 858 (1954)

39) R.F. Branch, Nature 177, 671 (1956)

40) J. Tragellas-Williams, Austr.J.Chem. 15, 150 (1962)

(E)-Oxime sollen danach bei $1325 - 1305 \text{ cm}^{-1}$, (Z)-Oxime bei $1300 - 1280 \text{ cm}^{-1}$ absorbieren. Mit Ausnahme von (E)-2d stehen die Werte der Oxime 2 (Tabelle 4) dazu in guter Übereinstimmung. Im Bereich der C=N-Valenzschwingung (Erwartungsbereich $1660 - 1630 \text{ cm}^{-1}$) lassen sich keine Aussagen hinsichtlich einer Konfigurationszuordnung⁴¹⁾ machen.

Tabelle 4

Lage der unterschiedlichen IR-Absorptionsbanden (cm^{-1}) der isomeren Oxime 2 in KBr.

<u>2</u>	O-H	N-O
(E)-a	1320	940
(Z)-a	1295	960
(E)-b	1320	935
(Z)-b	1280	965
(E)-c	1335	930
(Z)-c	1280	960
(E)-d	1295	935
(Z)-d	1285	945
(E)-e	1310	955
(Z)-e	1285	967
(E)-f	1320	945
(Z)-f	1285	940

Dagegen besteht eine weitere Möglichkeit im Bereich der N-O(H)-Valenzschwingung: im festen Zustand sollen bei Oximen die (E)-Formen um 940 cm^{-1} , die (Z)-Formen um 950 cm^{-1} absorbieren⁴²⁾.

Dies ist nur in Annäherung gegeben und sollte zur Konfigurationsbestimmung allein nicht dienen. Größere Unterschiede zwischen den isomeren Oximen 2 ergeben sich im Vergleich der O-H-Valenzschwingungen in verschiedenen konzentrierten Chloroformlösungen ¹⁹⁾⁴³⁾. Die bei den (E)-Formen von 2a, 2b, 2c, 2d, 2e und 2f auftretende Einzelbande für die freie Oxim-O-H-Valenzschwingung zwischen 3550 cm^{-1} und 3650 cm^{-1} ist bei Konzentrationen von 50 mg/ml und 6,25 mg/ml auch bei (Z)-2d und (Z)-2f vorhanden, jedoch nicht bei (Z)-2a, (Z)-2b, (Z)-2c und (Z)-2e (Tabelle 5). Assoziierte O-H-Valenzschwingungen mit Banden um 3200 cm^{-1} sind bei einer Konzentration von 50 mg/ml bei allen untersuchten Oximen 2 zu sehen (Abb. 1 und Abb. 2).

Nach Verdünnung auf 1/8 der Ausgangskonzentration von 50 mg/ml sind für die Oxime (E)-2a - 2f (Z)-2d und (Z)-2f auch bei entsprechender Vergrößerung der Schichtdicke, keine assoziierten O-H-Valenzschwingungen mehr wahrzunehmen ⁴³⁾ (Tabelle 5). Bei den Oximen (Z)-2a - 2c und (Z)-2e werden diese Banden jedoch nur in dem Maße geringer, wie der Verdünnungsgrad zunimmt ⁴⁴⁻⁴⁶⁾. Die Banden bleiben aber selbst nach der Verdünnung auf 1/8 der Ausgangskonzentration von 50 mg/ml immer noch sichtbar und erreichen fast volle Ausgangsintensität bei entsprechender Vergrößerung der Schichtdicke.

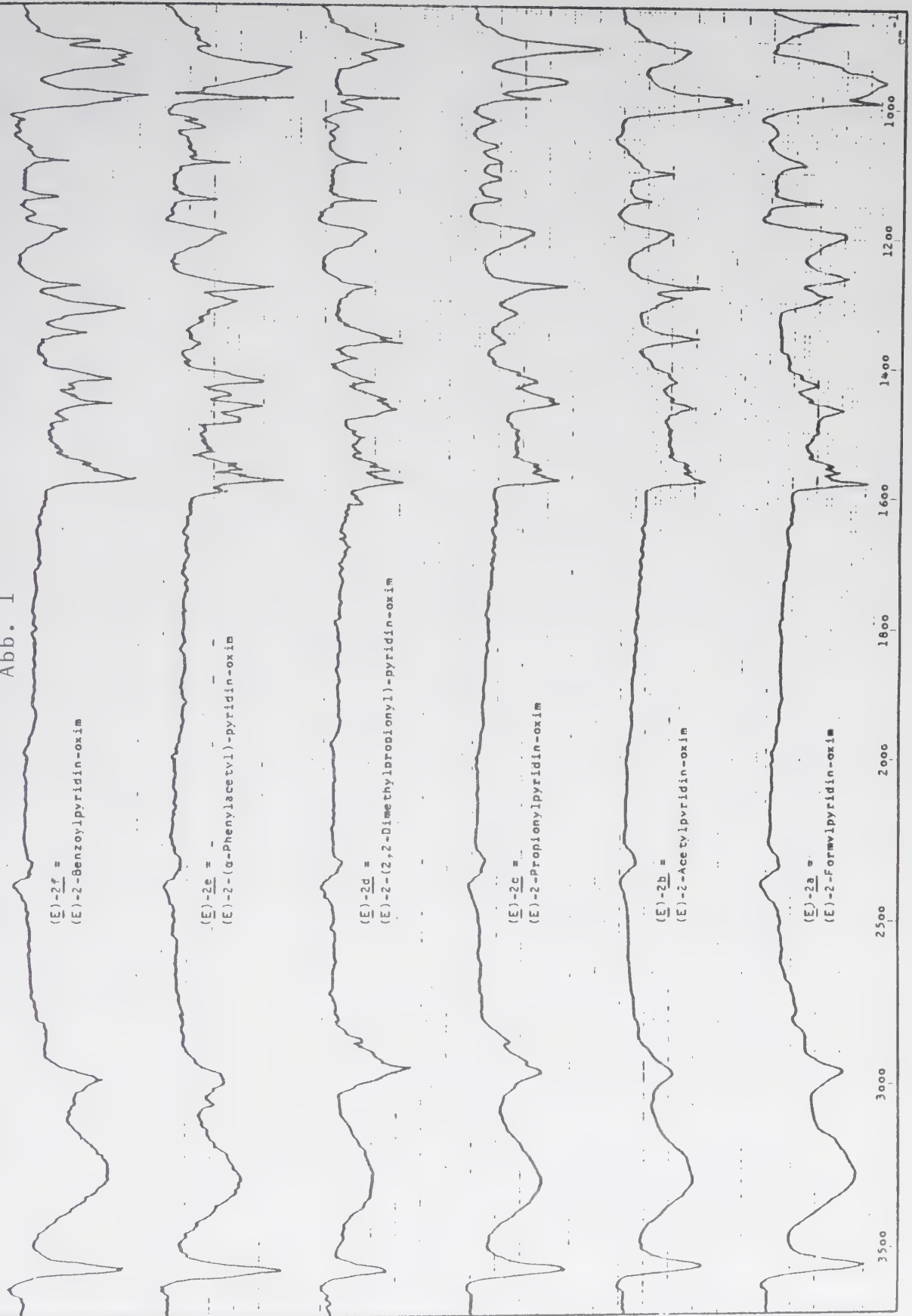
41) D. Hadzi, J.Chem.Soc. 1956, 2725

42) L.J. Bellamy in Infrarot Spektrum und chemische Konstitution, Verlag Dr.D.Steinkopf Darmstadt 1966

43) H. Volkmann in Handbuch der Infrarot-Spektroskopie, Verlag Chemie (Weinheim/Bergstraße) 1972

Lösungsmittel: Chloroform; Konzentration: 50mg/ml; Schichtdicke: 0,216mm.

Abb. 1



Lösungsmittel: Chloroform; Konzentration: 50mg/ml; Schichtdicke: 0.216mm.

Abb. 2

(Z)-2f =
(Z)-2-Benzoylpyridin-oxim

(Z)-2e =
(Z)-2-(α -Phenylacetyl)-pyridin-oxim

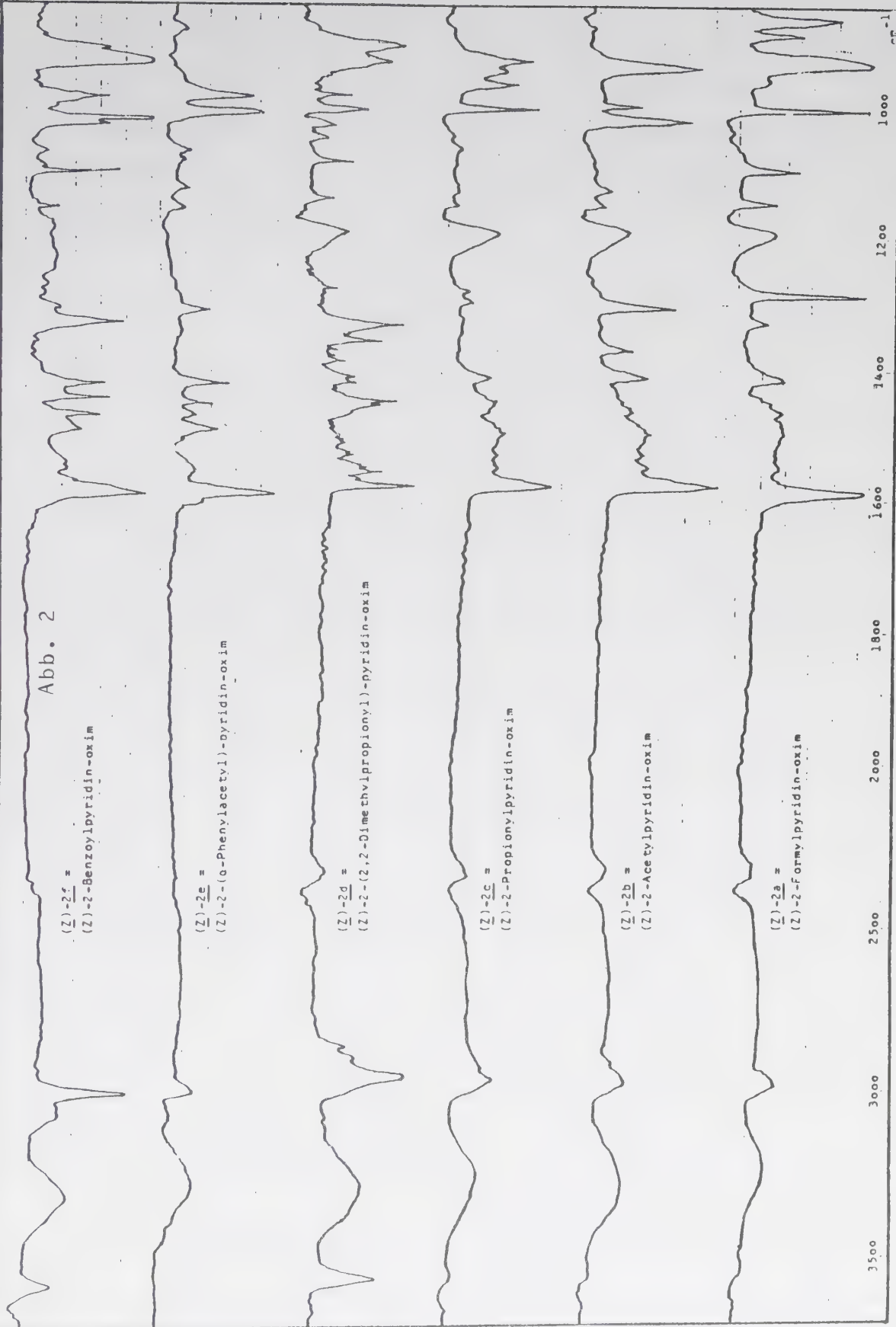
(Z)-2d =
(Z)-2-(2,2-Dimethylpropionyl)-pyridin-oxim

(Z)-2c =
(Z)-2-Propionylpyridin-oxim

(Z)-2b =
(Z)-2-Acetylpyridin-oxim

(Z)-2a =
(Z)-2-Formylpyridin-oxim

3500 3000 2500 2000 1800 1600 1400 1200 1000 cm^{-1}



Dieser Effekt spricht für das Vorliegen von intramolekularen Wasserstoffbrücken bei den (Z)-Formen der Oxime 2a - 2c und 2e, während bei allen anderen Oximen nur intermolekulare Wasserstoffbrücken vorliegen können, die in Abhängigkeit von der Konzentration aufbrechen ⁴³⁾⁴⁷⁾.

Tabelle 5

Lage der unterschiedlichen IR-Absorptionsbanden für die OH-Valenzschwingungen der isomeren Oxime 2 in Chloroform

<u>2</u>	K o n z e n t r a t i o n				
	50 mg/ml		Schichtdicke: <u>0,215 mm</u>	6,25 mg/ml	
(E)-a	3555	3260		3555	--
(Z)-a	--	3240		--	3240
(E)-b	3555	3250		3555	--
(Z)-b	--	3280		--	3280
(E)-c	3560	3260		3560	--
(Z)-c	--	3270		--	3270
(E)-d	3560	3270		3560	--
(Z)-d	3555	3280		3555	--
(E)-e	3560	3280		3560	--
(Z)-e	--	3260		--	3260
(E)-f	3550	3250		3550	--
(Z)-f	3570	3300		3570	--

-
- 44) M. Ogata, Chem.Pharm.Bull. (Tokyo) 11, 1517 (1963)
 45) D. Hadzi, L. Premru, Spektrochim.Acta 23A, 35 (1967)
 46) D.G. O'Sullivan, P.W. Sadler, J.Org.Chem. 22, 283 (1957)
 47) P.W. Sadler, J.Chem.Soc. 1961, 2162

2.3.3. ^1H - NMR - Spektroskopie

Die ^1H -NMR-Spektren der isomeren Oxime 2 sind in charakteristischer Weise verschieden und erlauben deren Zuordnung zur (E)- bzw. (Z)-Konfiguration ⁴⁸⁾. Die Resonanzlagen der Oxim-Hydroxylprotonen sind in DMSO- d_6 weitgehend unabhängig von der Konzentration ⁴⁹⁾. Die entsprechenden Signale der (Z)-Oxime 2b - 2f sind jeweils um etwa 0,15 - 0,5 ppm diamagnetisch gegenüber den (E)-Isomeren verschoben (Tabelle 6).

Das Aldoxim 2a zeigt dagegen eine deutliche Tieffeldverschiebung dieses Signals für die (Z)-Form.

Tabelle 6

Chemische Verschiebung der Oxim-Hydroxylprotonen der Oxime 2 in DMSO- d_6 ($\delta\text{ppm/TMS}$).

<u>2</u>	(<u>E</u>)	(<u>Z</u>)	$\Delta\delta = \delta\text{Z} - \delta\text{E}$
a	11,65	12,46	+ 0,81
b	11,47	11,29	- 0,18
c	11,35	11,03	- 0,32
d	10,98	10,44	- 0,54
e	11,64	11,51	- 0,19
f	11,61	11,46	- 0,15

48) J. Pejković-Radić, Helv.Chim.Acta 48, 1157 (1965)

49) G.G. Kleinspehn, J.A. Jung, S.A. Studniarz, J.Org.Chem. 32, 460 (1967)

In CDCl_3 sind sowohl die intra- wie auch die intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen gut zu beobachten. Daher zeigen die in CDCl_3 aufgenommenen ^1H -NMR-Spektren der Oxime (E)-2a - 2c und (E)-2e eine Konzentrationsabhängigkeit der Resonanzlage ihrer Oxim-Hydroxylprotonen, weil bei Verdünnung der Meßlösung die intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen aufbrechen, wodurch die Oxim-Hydroxylprotonen eine diamagnetische Verschiebung erfahren (Tabelle 7). Dagegen bleiben die intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen der Oxime (Z)-2a - 2c und (Z)-2e unabhängig von der Konzentration bestehen, sodaß keine wesentliche Verschiebung der Resonanzlage (~ 15 ppm) dieser Oxim-Hydroxylprotonen zu sehen ist.

Tabelle 7

Chemische Verschiebung der Oxim-Hydroxylprotonen der Oxime 2 in CDCl_3 (ppm/TMS)

<u>2</u>	(<u>E</u>)		(<u>Z</u>)		$\Delta\delta = \delta\text{Z} - \delta\text{E}$
	1 M	0,25 M	1 M	0,25 M	0,25 M
a	11,41	10,11	15,56	15,69	+ 5,58
b	10,98	9,95	15,59	15,66	+ 5,71
c	10,46	9,08	15,18	15,04	+ 5,96
d	8,94	8,95	8,67	8,65	- 0,30
e	9,73	8,71	15,60	15,67	+ 6,96
f	9,95	9,65	10,59	10,47	+ 0,82

In Tabelle 7 sind die Verschiebungen dargestellt, die sich bei Messung einer 1 M und einer 0,25 M Lösung der Oxime 2 in CDCl_3 ergeben. Aus ihr wird deutlich, daß die Resonanzlagen der (E)-Oxim-Hydroxylprotonen, mit Ausnahme von 2d, von einem Extremwert bei tiefem Feld bis zu einem Grenzwert bei hohem Feld "wandern", wenn man die Lösung verdünnt. Dieses "Wandern" ist ein Maß für das Aufheben der intermolekularen Wechselwirkungen: ab einer Grenzkonzentration entfallen diese. So verschiebt sich das OH-Signal einer 1 M Lösung von (E)-2a von $\delta 11,41$ ppm nach $\delta 10,11$ ppm in einer 0,25 M Lösung (Abb. 3).

Bei den Ketoximen 2f ist dieser Effekt viel weniger stark ausgeprägt: so verändert sich das OH-Signal von (E)-2f um 0,3 ppm, während sich das OH-Signal von (Z)-2f nur um 0,12 ppm in einer 0,25 M Lösung von CDCl_3 diamagnetisch verschiebt.

Bei den t-Butylketoximen 2d bleibt die Resonanzlage des jeweiligen Oxim-Hydroxylprotons sogar unabhängig von der Konzentration bestehen.

Die geringen Unterschiede in der OH-Resonanz bei 2f und die vergleichbare Signallage beider Oxim-Hydroxylprotonen von 2d sind ein Hinweis auf die Behinderung einer koplanaren Anordnung von Pyridinringebene und Hydroxyimin-Doppelbindung bei diesen Verbindungen, sodaß die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke im 6-Ringchelat erschwert, wenn nicht behindert wird. Die (Z)-Oxime 2a - 2c und 2e erfahren diese Behinderung nicht. Dies deckt sich mit den Befunden der UV- und IR-Spektroskopie.

50) W. Brügel, Zeitschr.f.Elektrochem., Ber. Bunsenges. Phys. Chem. 66, 159 (1967)

Lösungsmittel: CDCl_3 ; Temp.: konst. 37° ; innerer Standard: TMS

Abb. 3

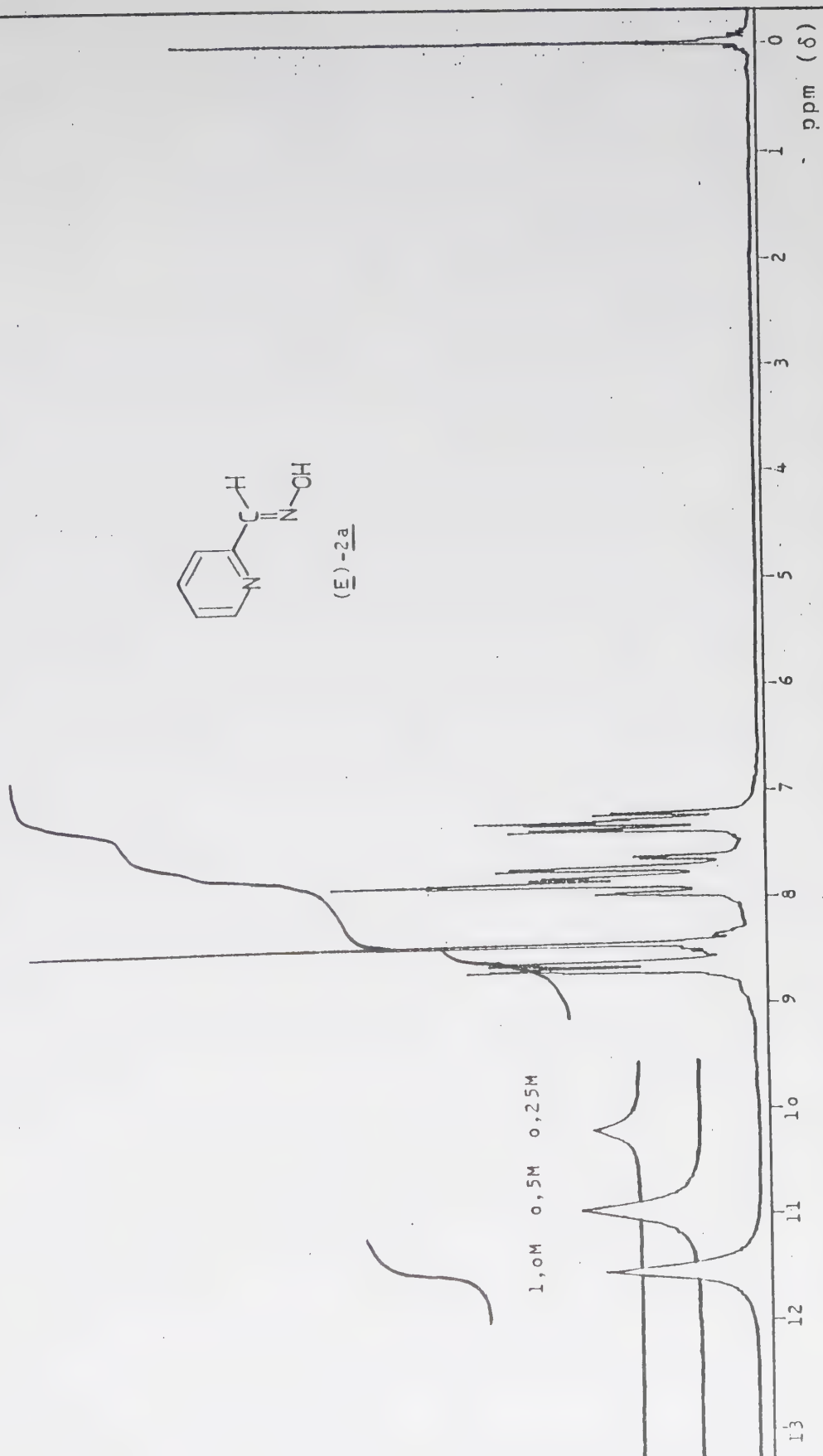
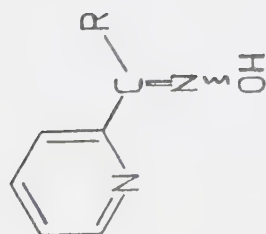


Tabelle 8

 ^1H - NMR - Daten der isomeren Oxime 2a - 2f* ($\delta\text{ppm/TMS}$)

<u>2</u>	<u>NOH</u>	H(3)	H(4)	H(5)	H(6)	R
(E)-a	11,65 s	7,8 m	7,8 m	7,36 dt	8,57 dd	8,10 s ($\alpha\text{-H}$)
(Z)-a	12,46 s	7,35 dd	7,91 dt	7,42 dt	8,66 dd	7,55 s ($\alpha\text{-H}$)
(E)-b	11,47 s	7,7 m	7,8 m	7,32 dt	8,59 dd	2,23 s (CH_3)
(Z)-b	11,29 s	7,40 dd	7,85 dt	7,28 dt	8,60 dd	2,17 s (CH_3)
(E)-c	11,35 s	7,7 m	7,8 m	7,31 dt	8,56 dd	1,06 t (CH_3) 2,85 q (CH_2)
(Z)-c	11,03 s	7,36 dd	7,76 dt	7,28 dt	8,59 dd	1,01 t (CH_3) 2,56 q (CH_2)
(E)-d	10,98 s	7,35 dd	7,78 dt	7,22 dt	8,54 dd	1,26 s (CH_3) ₃
(Z)-d	10,44 s	7,33 dd	7,78 dt	7,17 dt	8,58 dd	1,13 s (CH_3) ₃
(E)-e	11,64 s	7,87 dd	7,77 dt	7,34 dt	8,57 dd	4,26 s (CH_2) 7,20 s (5 Phenyl)
(Z)-e	11,51 s	7,7 m zus.m.H(4) zus.m.H(3)	7,7 m	7,28 dt	8,58 dd	3,38 s (CH_2) 7,14 s (5 Phenyl)
(E)-f	11,61 s	7,8 m zus.m.H(4) zus.m.H(3)	7,8 m	7,3 m	8,47 dd	7,3 m (5 Phenyl) zus.m.H(5)
(Z)-f	11,46 s	7,53 dd	7,91 dt	7,40 dt	8,67 dd	7,36 s (5 Phenyl)

* 0,5M Lösungen in DMSO-d_6 bei 37° . Die chemischen Verschiebungen sind in δ -Einheiten (ppm) gegen TMS als innerem Standard angegeben. Die Kopplungskonstanten liegen im Erwartungsber. 50).

2.4. Beckmann-Umlagerung der konfigurations-
isomeren 2-Pyridyl-ketoxime 2b - 2f.

Die Konfiguration der dargestellten Oxime 2 war durch die spektroskopischen Daten wahrscheinlich gemacht worden. Für die Ketoxime 2b - 2f sollte die Beckmann-Umlagerung der einheitlichen Stereoisomere endgültige Klarheit bringen. In der Literatur ¹⁸⁾27-28) sind die Umlagerungen von (E)-2b, (E)-2e sowie von (E)-2f und (Z)-2f beschrieben.

Die Beckmann-Umlagerung bietet sich für die Struktursicherung von isomeren Ketoximen an, weil nach allgemeiner Auffassung ¹⁾²⁾51-57) stets die zur Hydroxylgruppe trans-ständige Gruppe "R" wandert.

Daher sollte die Beckmann-Umlagerung der (E)-Ketoxime 2b - 2f die Acylaminopyridine 3b - 3f liefern. Aus der Umlagerung der (Z)-Ketoxime 2b - 2f waren die Pyridin-2-carbonsäureamide 4b - 4f zu erwarten.

51) L.G. Donaruma, W.Z. Heldt, Org.React. 11, 1 (1960)

52) E. Beckmann, Ber.Dtsch.Chem.Ges. 19, 988 (1886);
Ber.Dtsch.Chem.Ges. 20, 1507 (1887)

53) R.F. Brown, N.M. van Gulick, G.H. Schmid, J.Am.Chem. Soc. 77, 1094 (1955)

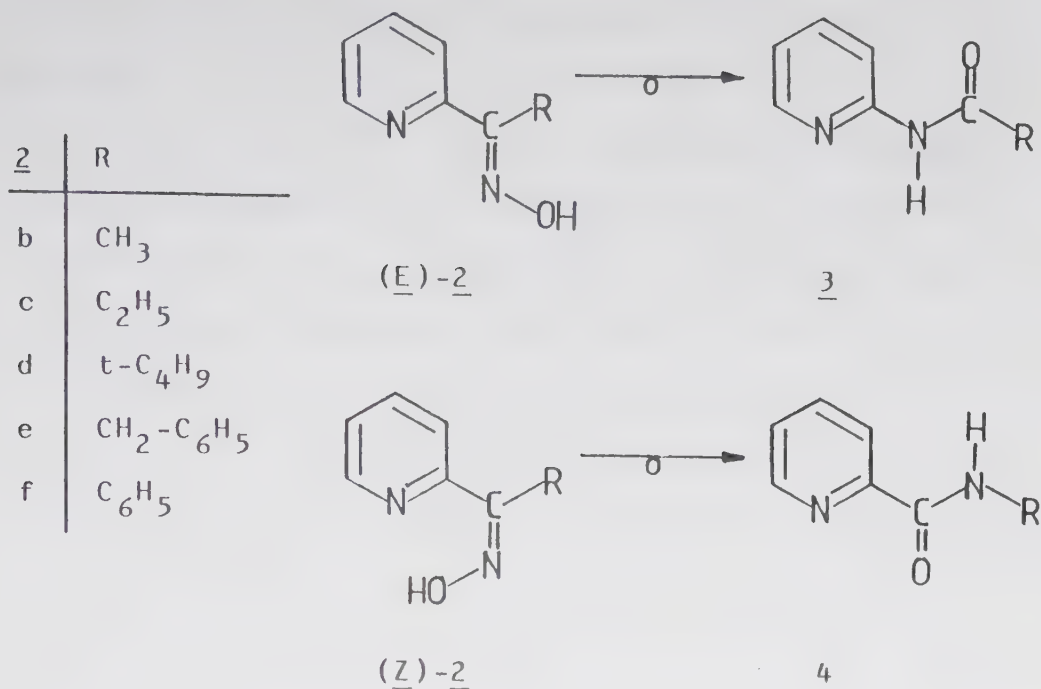
54) E.J. Poziomek, A.R. Melvin, J.Org.Chem. 26, 3769 (1960)

55) C.A. Grob, Helv.Chim.Acta 45, 2539 (1962)

56) A. Werner, A. Piquet, Ber.Dtsch.Chem.Ges. 37, 4298 (1904)

57) B. Unterhalt, U. Pindur, Arch.Pharm. (Weinheim) 306, 813 (1973)

Beckmann-Umlagerung der Ketoxime 2b - 2f



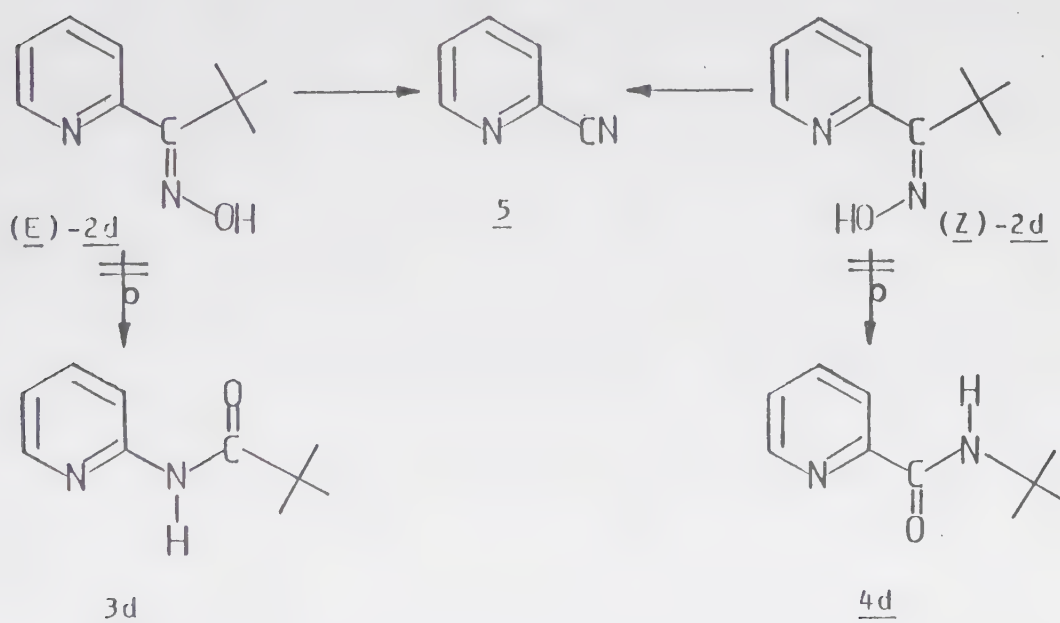
Bei der Umlagerung sollte eine Beckmann-Reaktion 2. Art ⁵⁵⁾ verhindert werden. Unter bestimmten strukturellen und experimentellen Voraussetzungen können dabei aus Ketoximen in Gegenwart wasserabspaltender Mittel unter Fragmentierung des Moleküls Nitrile und deren Folgeprodukte entstehen.

Ein atypischer Verlauf der normalen Beckmann-Umlagerung ⁵⁶⁾, bei der es zur Hydrolyse des Ketoxims und zur Bildung entsprechender Ketone ⁵³⁾⁵⁷⁾ kommt, war ebenfalls zu vermeiden.

Die zu erwartenden Umlagerungsprodukte 3 und 4 wurden als Vergleichssubstanzen unabhängig synthetisiert. Mit Ausnahme von 3d und 4d konnte dabei auf Literaturangaben zurückgegriffen werden.

Die Beckmann-Umlagerung wurde zunächst in reinem Benzolsulfochlorid ohne weiteren Zusatz sowie unter Zusatz von Dicyclohexylcarbodiimid ⁵⁸⁾ erfolglos versucht.

Thionylchlorid in Ether lieferte die erwarteten Umlagerungsprodukte in so geringer Menge, daß sie nur nachzuweisen waren. Geeigneter erwies sich fein suspendiertes Phosphorpentachlorid ²⁸⁾ in Chloroform; damit konnten alle Ketoxime 2 - mit Ausnahme von (E)-2d und (Z)-2d - in die entsprechenden "richtigen" Amide 3 und 4 mit Ausbeuten zwischen 35% und 70% umgelagert werden.



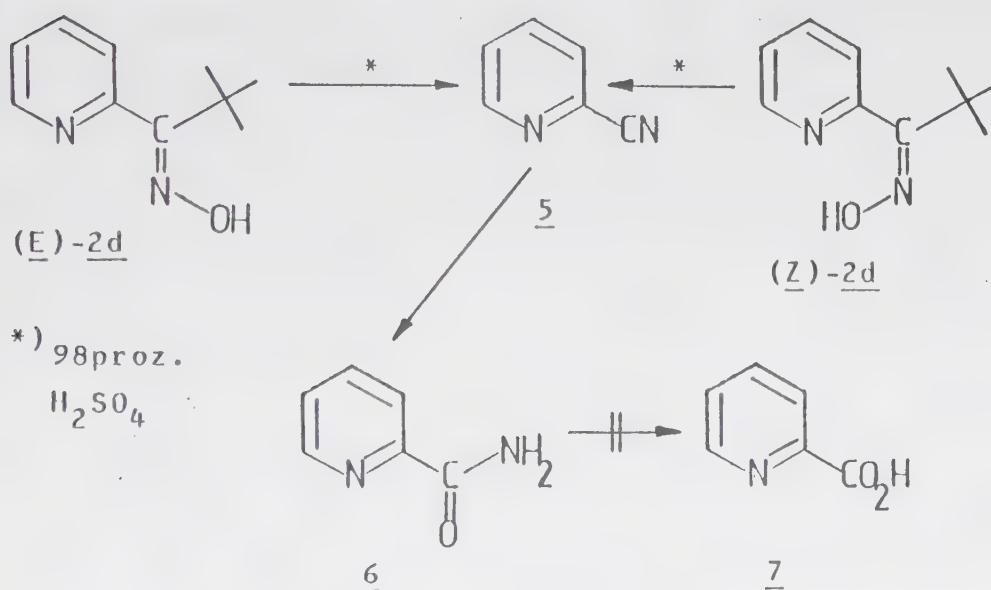
Schema 1: Umsetzung der Oxime 2d in einer "Schmelze" von PCl_5 .

58) A. Buzas, F. Cannae, C. Egnell, P. Freon, C.R.Acad. Sci.Ser.C 262, 658 (1966)

59) R.J. Kitz, S. Ginsburg, J.B. Wilson, Biochem.Pharmacol. 14, 1471 (1965)

Auch der Versuch, (E)-2d sowie (Z)-2d durch Erhitzen mit reinem PCl_5 ⁵⁹⁾ umzulagern, scheiterte. In beiden Fällen konnte nur 2-Cyano-pyridin 5 isoliert werden (Schema 1).

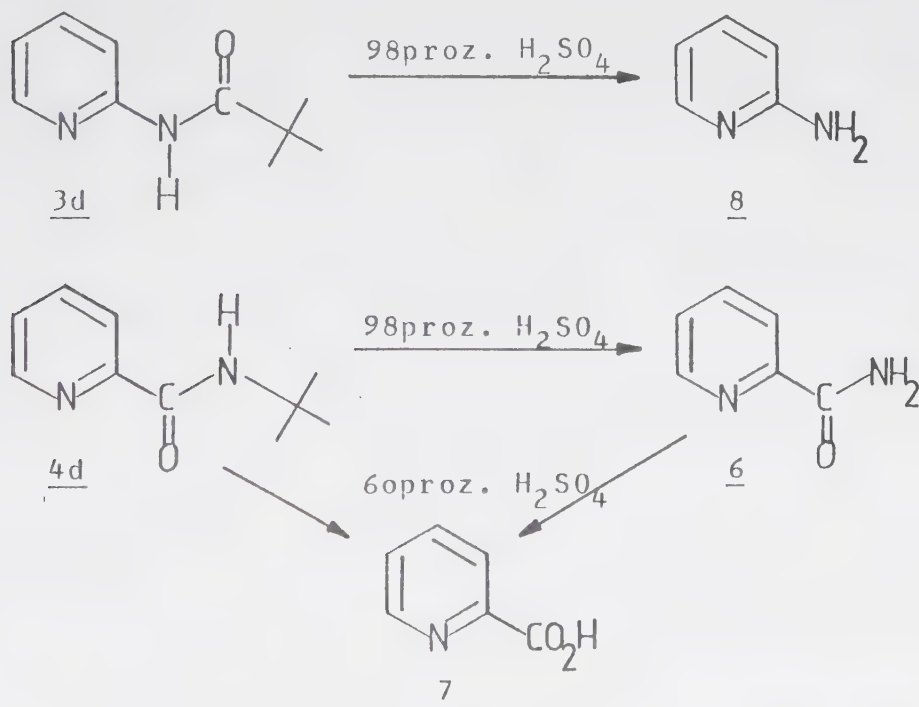
Bei der versuchten Umlagerung von (E)-2d und (Z)-2d mit konzentrierter Schwefelsäure als Beckmann-Reagenz⁵¹⁾ konnte anstelle der erwarteten Amide 3d und 4d nur das 2-Pyridincarbonsäureamid 6 neben Spuren von 2-Cyanopyridin 5 erhalten werden; 2-Pyridincarbonsäure 7 konnte hierbei nicht nachgewiesen werden (Schema 2).



Schema 2: Umsetzung der Oxime 2d mit konz. H_2SO_4 .

Bei diesem Reaktionsablauf handelt es sich offenbar um eine Beckmann-Reaktion 2. Art⁵⁵⁻⁵⁶⁾. Die Fragmentierung des Moleküls durch Eliminierung des t-Butylrestes führt bei beiden Isomeren von 2d zum 2-Cyanopyridin 5, welches fast vollständig zum 2-Pyridin-

carbonsäureamid 6 hydrolysiert. Um auszuschließen, daß es sich bei 5 und 6 um Folgeprodukte aus primär gebildeten Beckmann-Amiden handelt, wurden die unabhängig synthetisierten Amide 3d und 4d ebenfalls der Reaktion mit konzentrierter Schwefelsäure unterworfen. Dabei konnte in jeweils quantitativer Ausbeute das 2-Aminopyridin 8 aus 3d und überraschenderweise 2-Pyridincarbonsäureamid 6 aus 4d erhalten werden. Die nach Hydrolyse von 4d eigentlich zu erwartende 2-Pyridincarbonsäure 7 konnte erst bei Erhitzen von 4d mit 60proz. Schwefelsäure aus dem Trockenrückstand oder durch alkalische Verseifung des Amids 4d ⁶⁰⁾ isoliert werden (Schema 3).



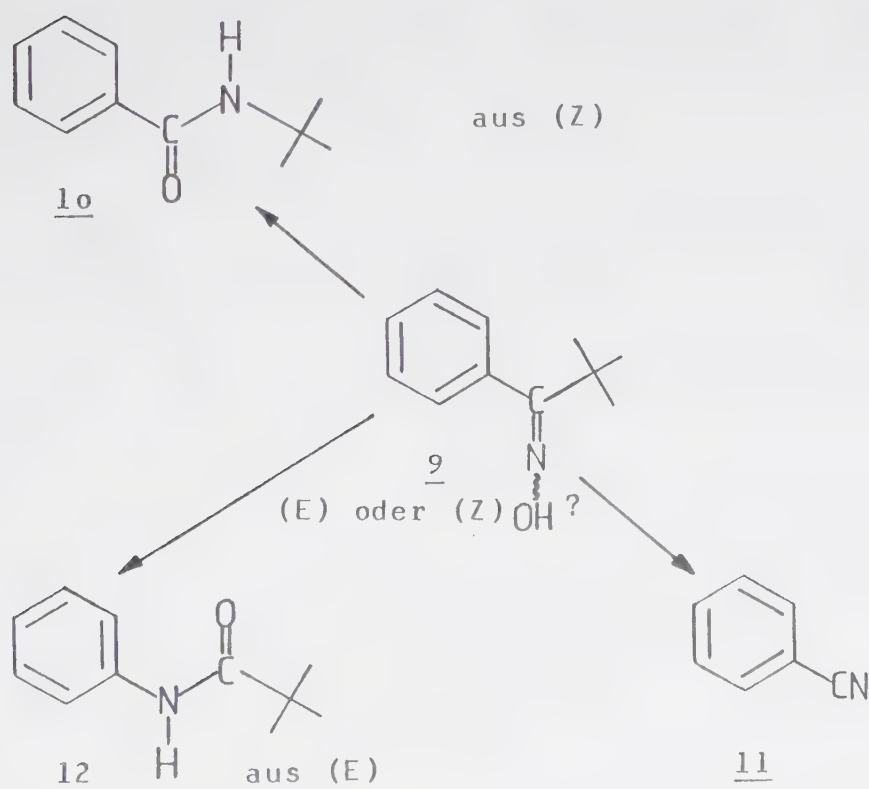
Schema 3: Hydrolyse und Fragmentierung der Amide 3d und 4d mit Schwefelsäure.

60) J.J. Ritter, J. Kalish, J.Am.Chem.Soc. 70, 4048 (1948)

Mit Hilfe der bis dahin verwendeten Beckmann-Reagenzien war es also nicht möglich, unter den eingehaltenen Reaktionsbedingungen eine eindeutige Konfigurationszuordnung für 2d zu treffen.

Deshalb wurde die Umlagerung der stereoisomeren Oxime 2d erneut mit Benzolsulfochlorid, jedoch in alkalischer Lösung ⁵³⁾ versucht.

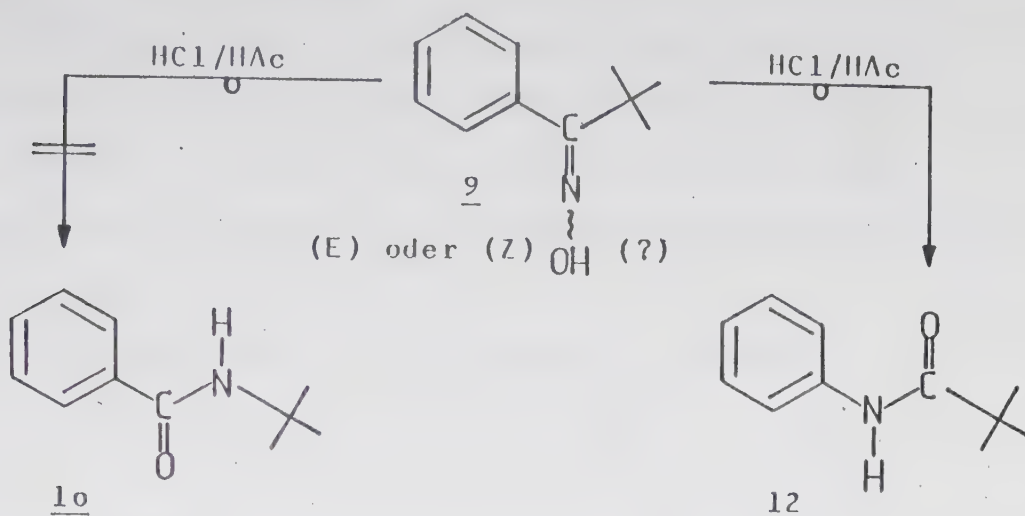
BROWN und Mitarbeiter hatten mit dieser Methode Erfolg bei der Umlagerung des in seiner Konfiguration unbekannten t-Butyl-phenyl-ketoxims ^{*} 9. Sie erhielten in guten Ausbeuten das "richtige" N-t-Butylbenzamid 10, während Umlagerungsversuche mit PCl_5 in Ether bis dahin nur zu Benzonitril 11 geführt hatten ⁶¹⁾.



61) G. Schroeter, Ber.Dtsch.Chem.Ges. 44, 1201 (1911)

* Dieses Oxim ist bisher nicht in beiden möglichen Konfigurationen bekannt.

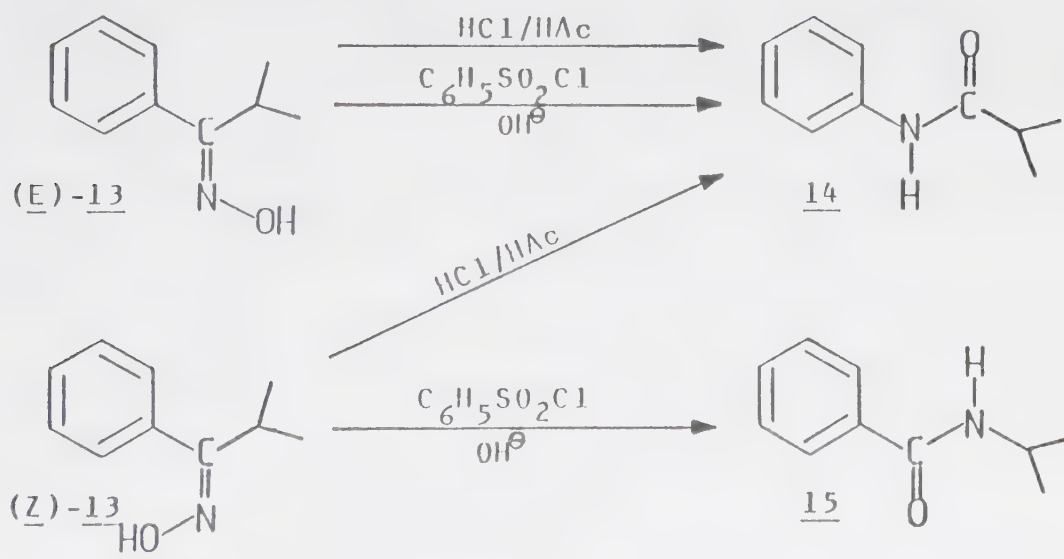
Weitere Versuche derselben Arbeitsgruppe mit HCl/
Eisessig als Reagenz führten zum Pivalinsäureanilid 12
als dem einzigen Umlagerungsprodukt von 9.



(Z)-Umlagerungsprodukt

(E)-Umlagerungsprodukt

Parallel dazu waren die einheitlichen (E)- und
(Z)-Isopropyl-phenyl-ketoxime 13, ebenfalls in alkali-
scher Lösung, mit Benzolsulfochlorid umgelagert wor-
den ⁵³).



Dabei entstanden aus dem (E)-Isomer das er-
wartete Isobutyrylanilid 14 und aus dem (Z)-Isomer
das erwartete N-Isopropylbenzamid 15.

Dagegen lieferten beide isomeren Isopropyl-phenyl-ketoxime unabhängig von ihrer Konfiguration nur Isobutyrylanilid 14, wenn HCl/Eisessig das Reagenz war.

BROWN und Mitarbeiter folgerten aus diesen Ergebnissen, daß sich mit HCl/Eisessig die (Z)-Form zunächst in die (E)-Form des Isopropyl-phenyl-ketoxims umlagert und dann durch Beckmann-Umlagerung das Isobutyrylanilid ergibt.

Die Anwendung der Überlegungen von BROWN et al. auf das t-Butyl-phenyl-ketoxim 9 führte zu der Aussage, daß dem einheitlichen Oxim 9 die (Z)-Konfiguration zukommen müsse und eine Beckmann-Umlagerung ohne vorhergehende Isomerisierung mit Benzolsulfochlorid in alkalischem Milieu möglich war.

Die Verwendung des von BROWN ⁵³⁾ vorgeschlagenen Beckmann-Reagenzes Benzolsulfochlorid für die Umlagerung von (E)-2d und (Z)-2d in einem Gemisch aus 15proz. Natronlauge und Isopropanol führte dann schließlich in quantitativer Ausbeute zu den erwarteten Amiden 3d und 4d in einheitlicher Reaktion.

Damit war auch die Konfiguration der t-Butyl-ketoxime 2d durch Beckmann-Umlagerung abgesichert.

Darüberhinaus erwies sich diese Methode der Beckmann-Umlagerung als optimal für die gesamte Reihe der 2-Pyridyl-Ketoxime, denn sie liefert in glatter Reaktion die der jeweiligen Konfiguration entsprechenden 2-Pyridyl-amide als einzige Reaktionsprodukte.

Neben dem Vergleich mit authentischem Material erlauben die Massenspektren ⁶²⁻⁶⁶⁾ eine eindeutige Zuordnung der Amide 3 und 4.

Die Fragmentierung der 2-Acylaminopyridine 3, mit Ausnahme von 3d und 3f, ist charakterisiert durch Abspaltung des Säurerestes als Keten, die als Mc-Lafferty-Umlagerung gedeutet werden kann (Weg A). Es entsteht das 2-Aminopyridinium (m/e 94; Basispeak). Durch Abspaltung der Aminogruppe entsteht daraus das Fragment m/e 78. Der Peak M^+ -69 ist von zweitgrößter Intensität und dem Pyrrolion m/e 67 zuzuordnen, welches aus dem 2-Aminopyridinium durch Abspaltung von HCN entsteht (Fragmentierungsschema 1).

Die Amide 3d und 3f erfahren dagegen eine homolytische Spaltung (Weg B). Dadurch entsteht aus 3d das Fragment m/e 93, das gleichzeitig der Basispeak ist. Bei 3f ist das stabile Benzoylion als Fragment m/e 105 der Basispeak.

Die Spektren der 2-Pyridincarbonsäureamide 4 sind ebenfalls durch zwei verschiedene Abbauewege gekennzeichnet. Zum einen herrscht (Weg C) eine Mc-Lafferty vor (4b und 4c); das entstehende Acyliumion mit m/e 107 verliert CO und liefert das Fragment m/e 79,

-
- 62) H. Kienitz, Massenspektroskopie, Verlag Chemie (Weinheim/Bergstrasse) 1968
- 63) G. Spiteller, Massenspektrometrische Strukturanalyse organischer Verbindungen, Verlag Chemie (Weinheim/Bergstraße) 1966
- 64) G. Hvistendahl, K. Undheim, J.H. Blanch, Chem.Scr. 7, 21 (1975)
- 65) A. Frigerio, Essential Aspekts of Mass Spektrometry, 89, Spektrum Publications New York 1974
- 66) Z. Zaretskii, A. Ben-Bassat, D. Larvi, J. Heterocycl. Chem. 12, 837 (1975)

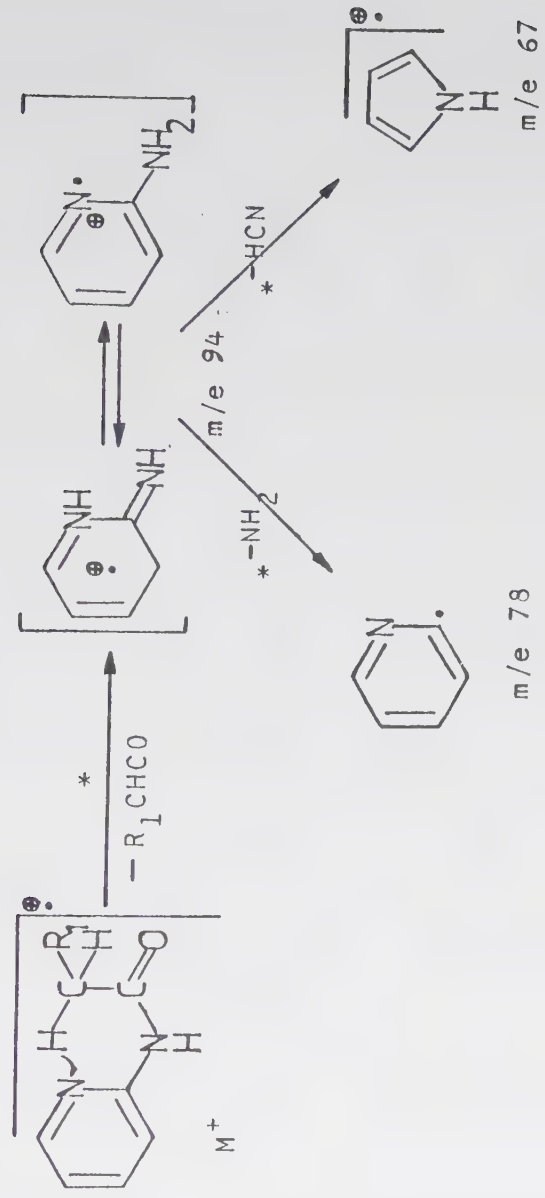
Fragmentierungsschema 1

Weg (A) :

$R_1 = H$ (3b)

$R_1 = CH_3$ (3c)

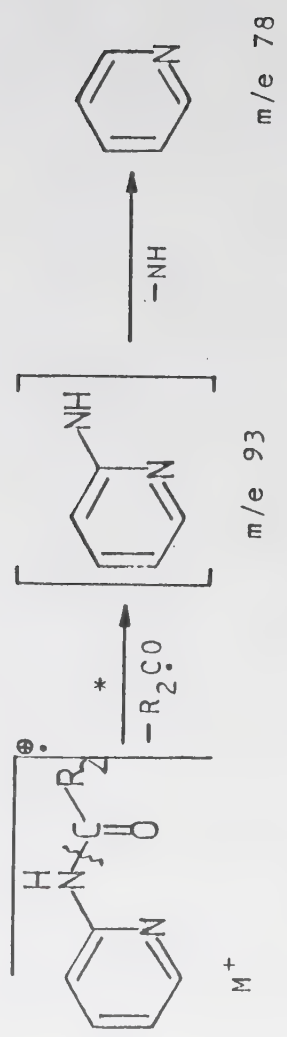
$R_1 = C_6H_5$ (3e)



Weg (B) :

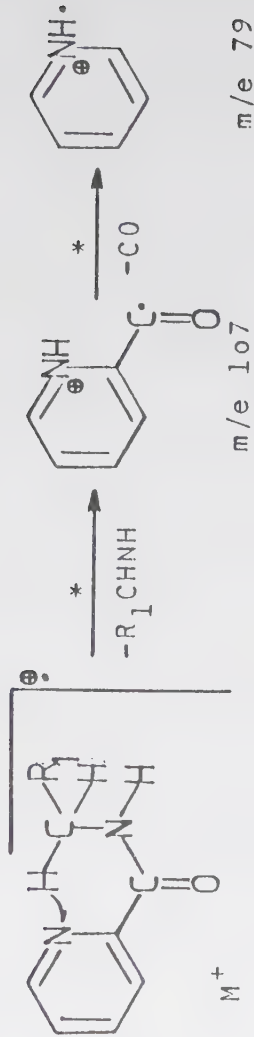
$R_2 = t-C_4H_9$ (3d)

$R_2 = C_6H_5$ (3f)

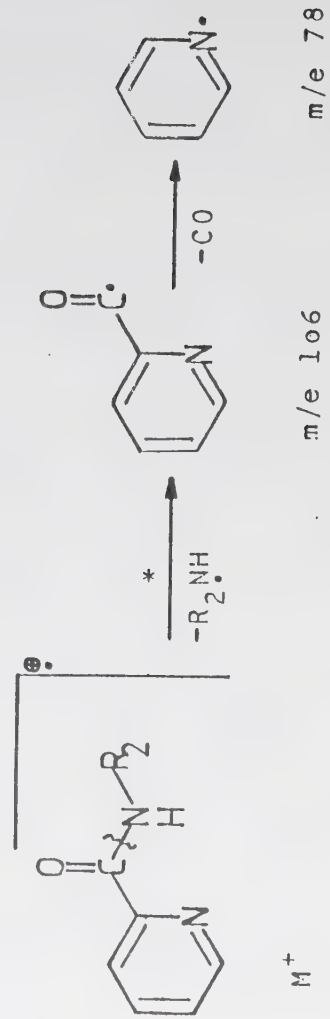
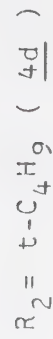


Fragmentierungsschema 2

Weg (C) :



Weg (D) :



welches auch in beiden Fällen Basispeak ist.

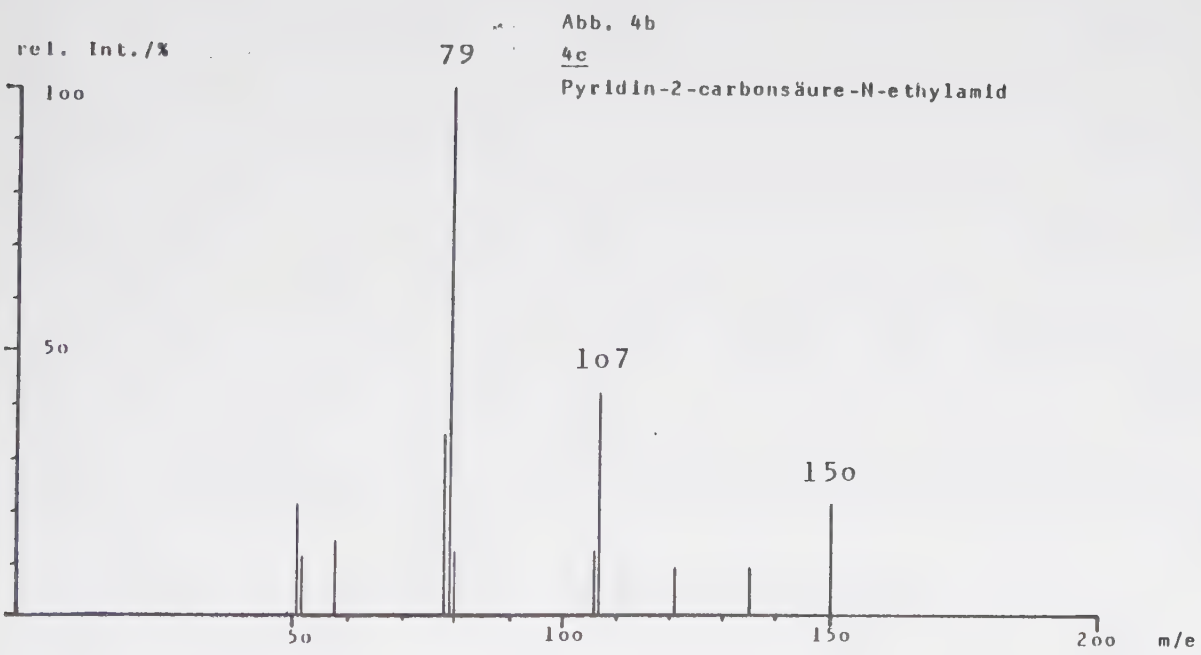
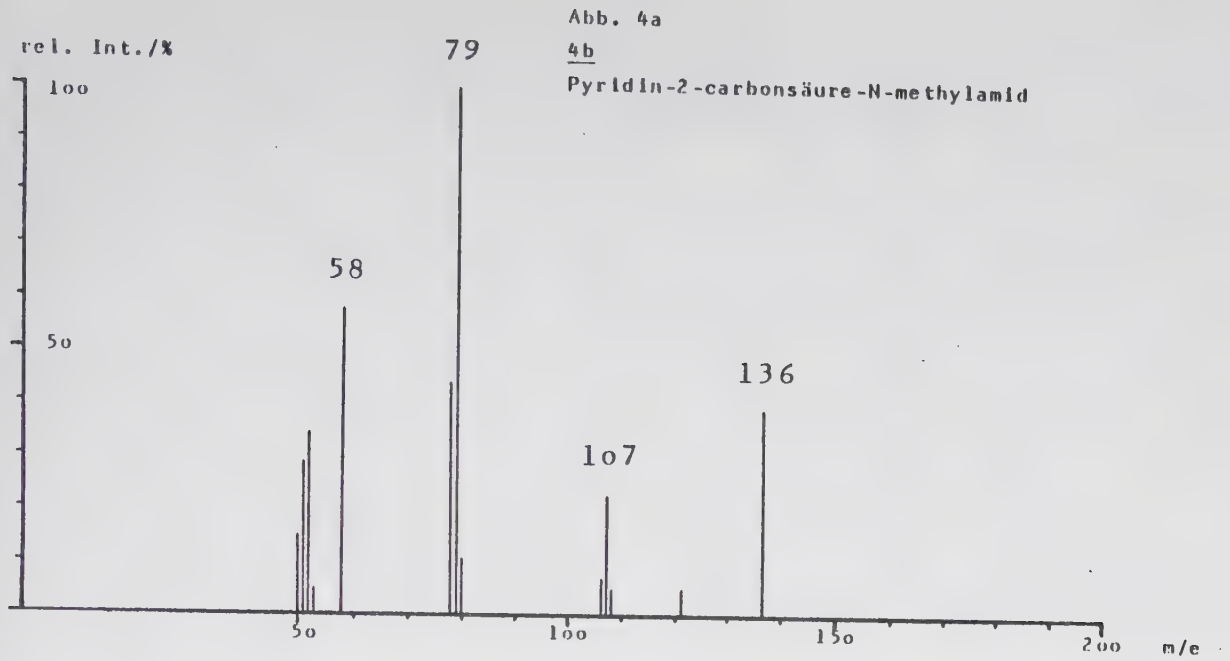
Zum andern verläuft eine Amidspaltung ohne H-Umlagerung (Weg D). Diese führt zum Fragment m/e 106, welches ebenfalls CO verliert und das Fragment m/e 78 liefert. Dieses ist der Basispeak beim Abbauweg von 4d, 4e und 4f (Fragmentierungsschema 2).

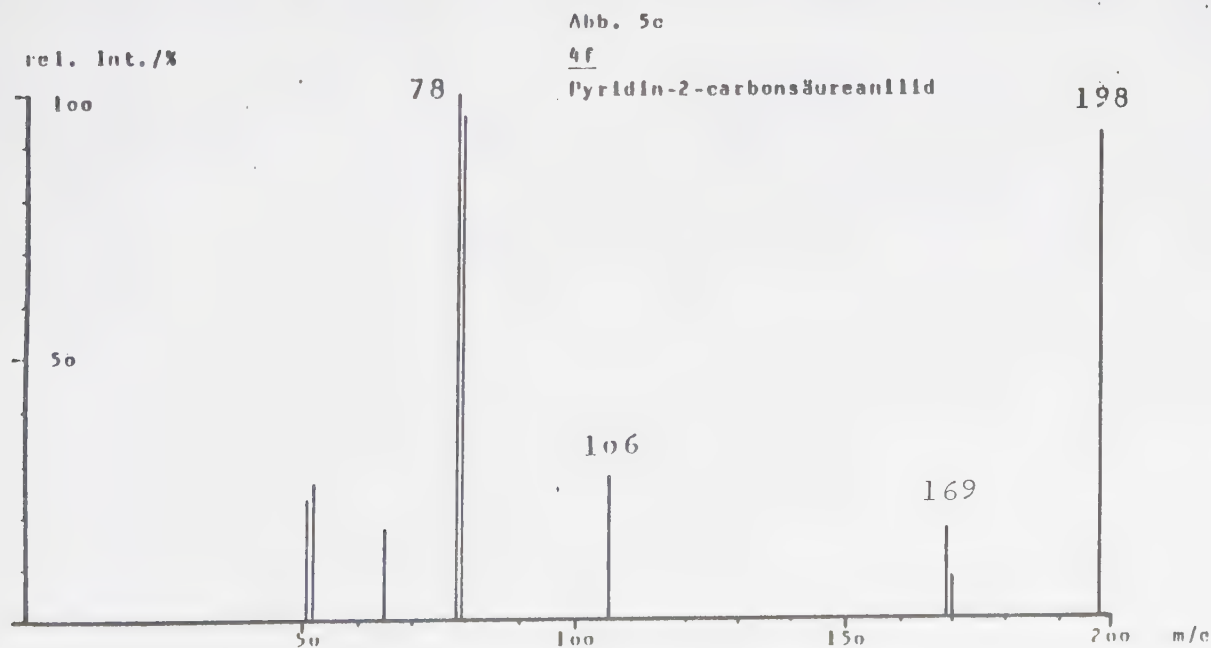
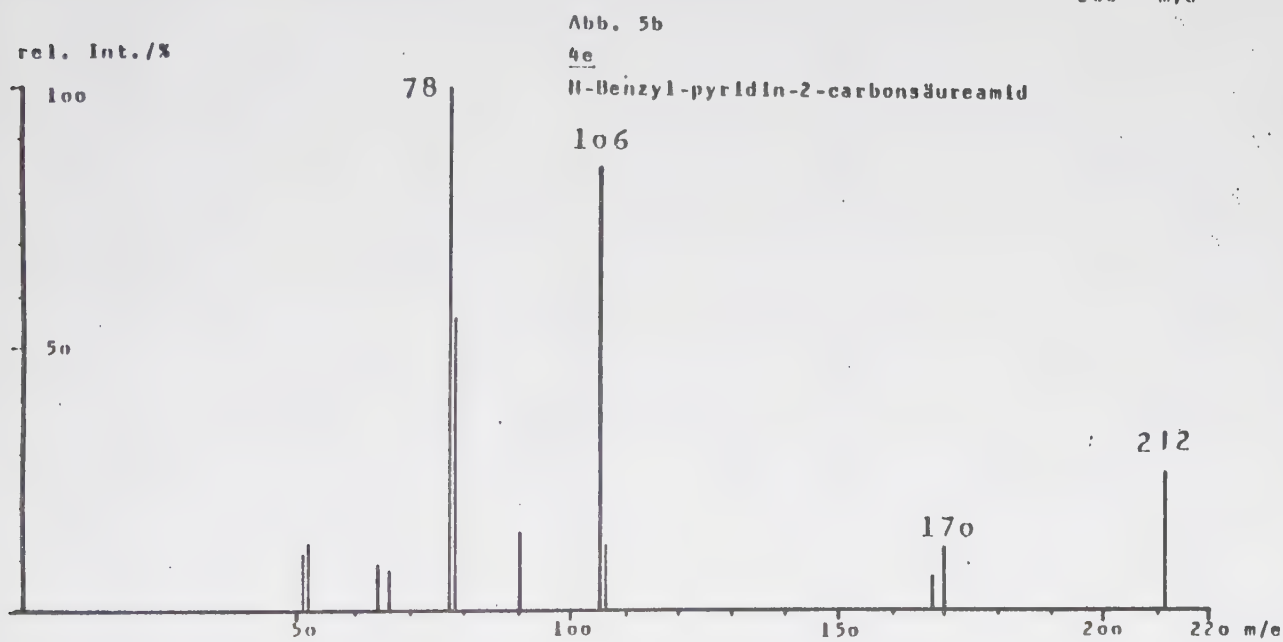
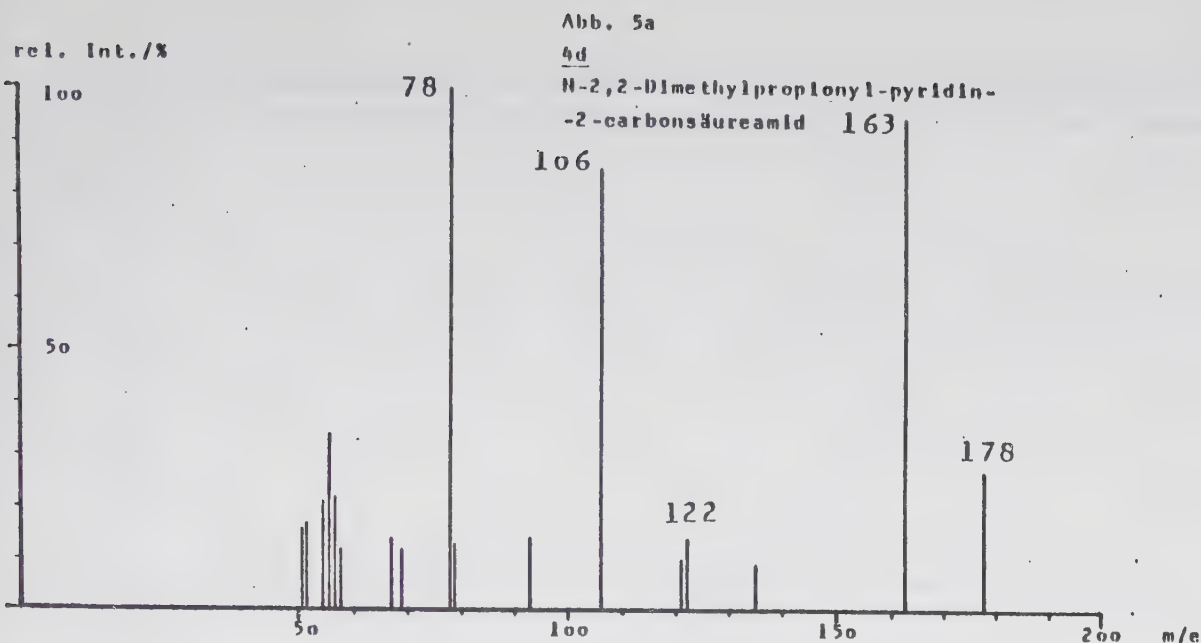
Im Fragmentierungsschema "2" ist der Abbau mit einer H-Umlagerung als Weg C dargestellt, der Abbauweg ohne H-Umlagerung als Weg D.

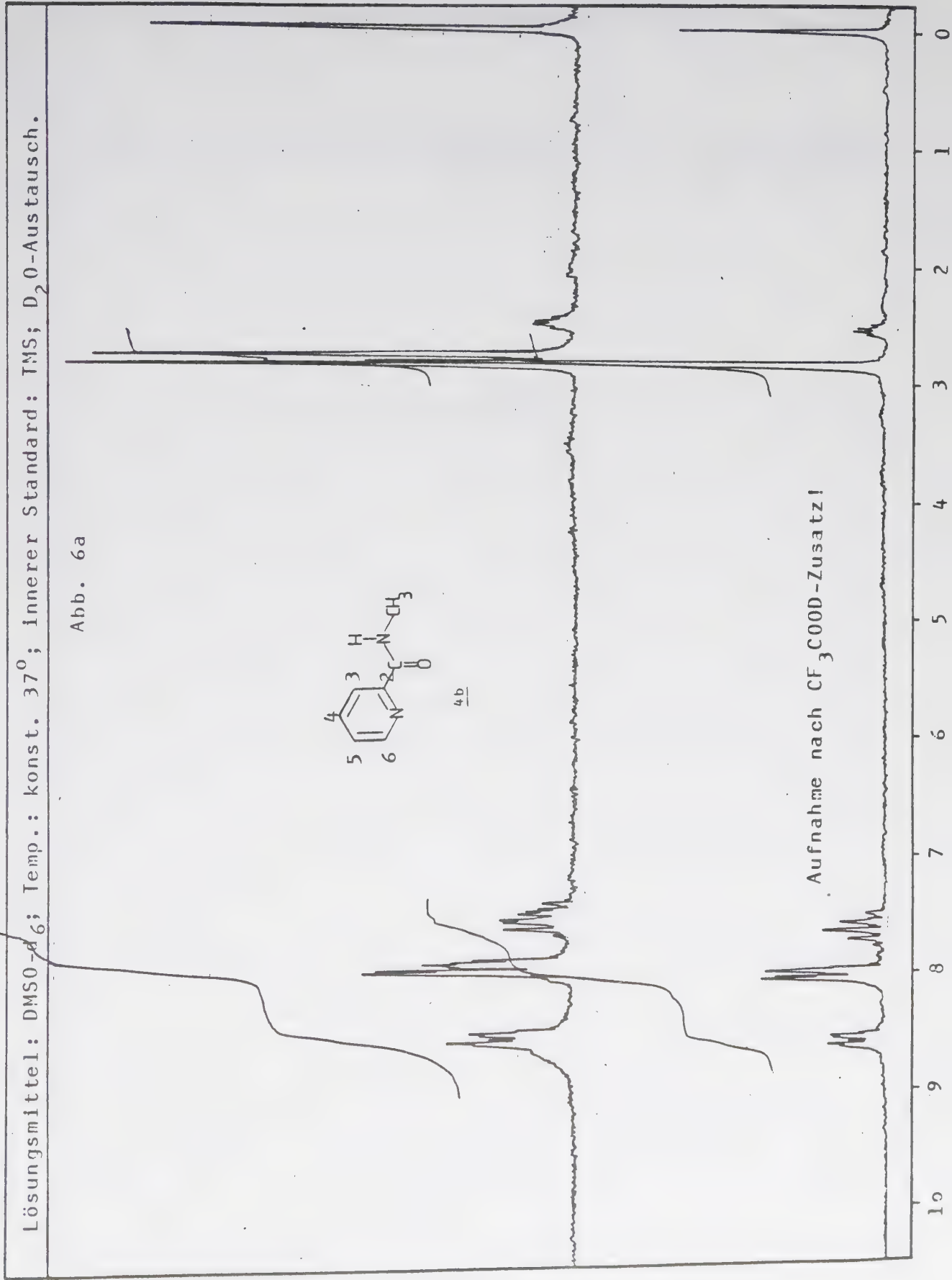
Damit lassen sich die Amide 4 auch durch die Bevorzugung des einen oder des anderen Abbauweges unterscheiden: 4b und 4c fragmentieren bevorzugt nach Weg C, 4d, 4e und 4f bevorzugt nach Weg D, wie aus den Intensitäten der Peaks m/e 107 und 79 bzw. 106 und 78 hervorgeht (siehe Abb. 4 und Abb. 5).

Eine einfache Unterscheidung der strukturisomeren Amide 3 und 4 ist auch durch die in DMSO-d₆ aufgenommenen ¹H-NMR-Spektren möglich. Bei den Amidn 4b, 4c und 4e beobachtet man eine Kopplung des NH-Protons mit den benachbarten CH-Protonen, deren Aufspaltung nach Zugabe von deuterierter Trifluoressigsäure verschwindet (Tabelle 10 und Abb. 6).

Die Ergebnisse der Beckmann-Umlagerung bestätigen die spektroskopisch getroffenen Zuordnungen der Oxime 2b - 2f.

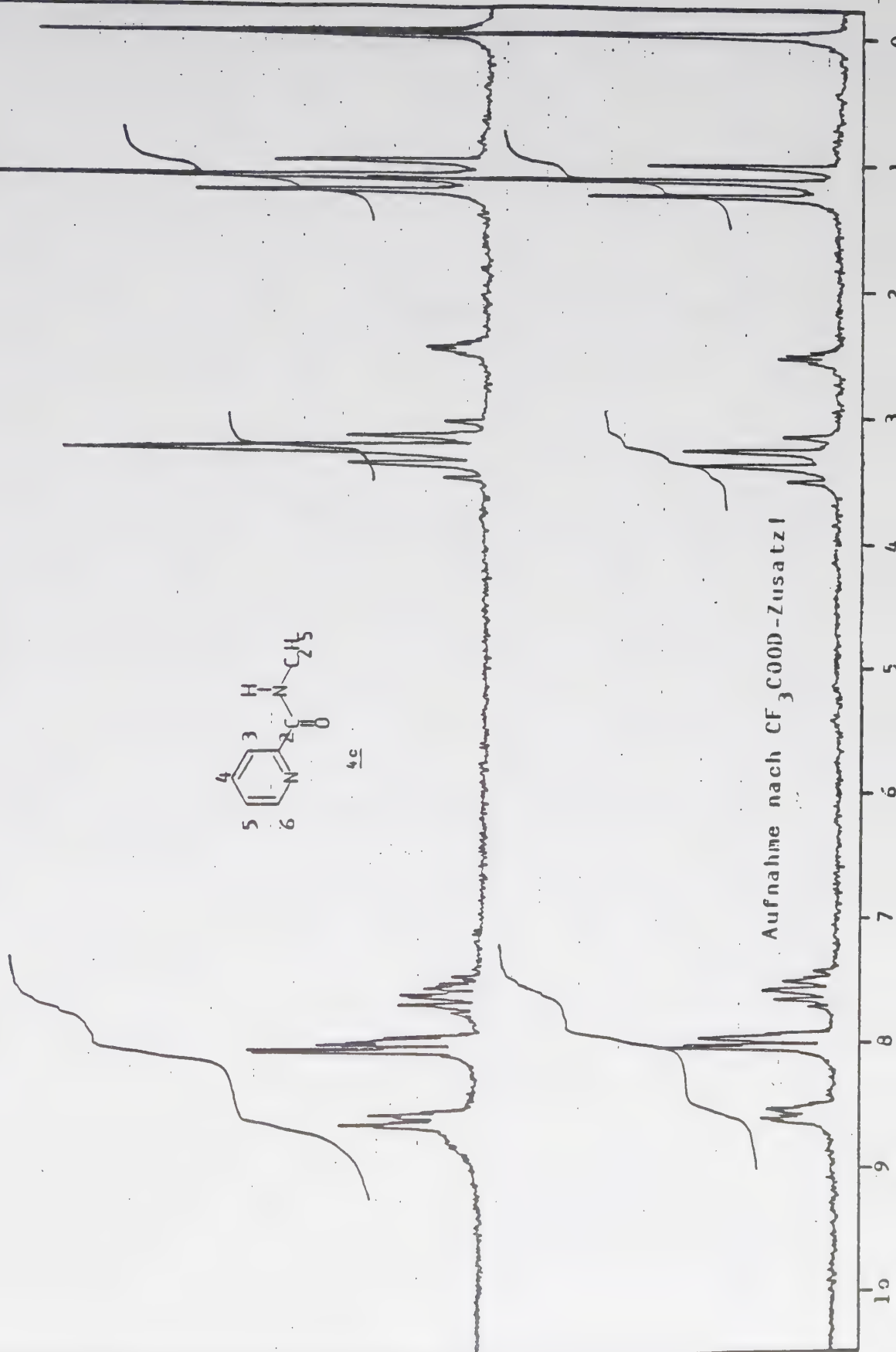






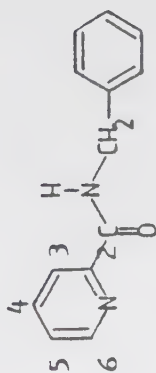
Lösungsmittel: DMSO-d₆; Temp.: konst. 37°; Innerer Standard: TMS; D₂O-Austausch.

Abb. 6b



Lösungsmittel: DMSO-d₆; Temp.: konst. 37°; Innerer Standard: TMS; D₂O-Austausch.

Abb. 6c



4e

Aufnahme nach CF₃COOD-Zusatz!

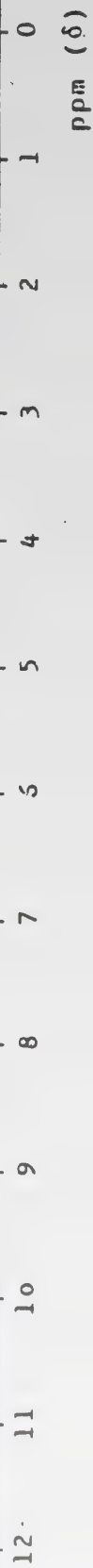


Tabelle 10

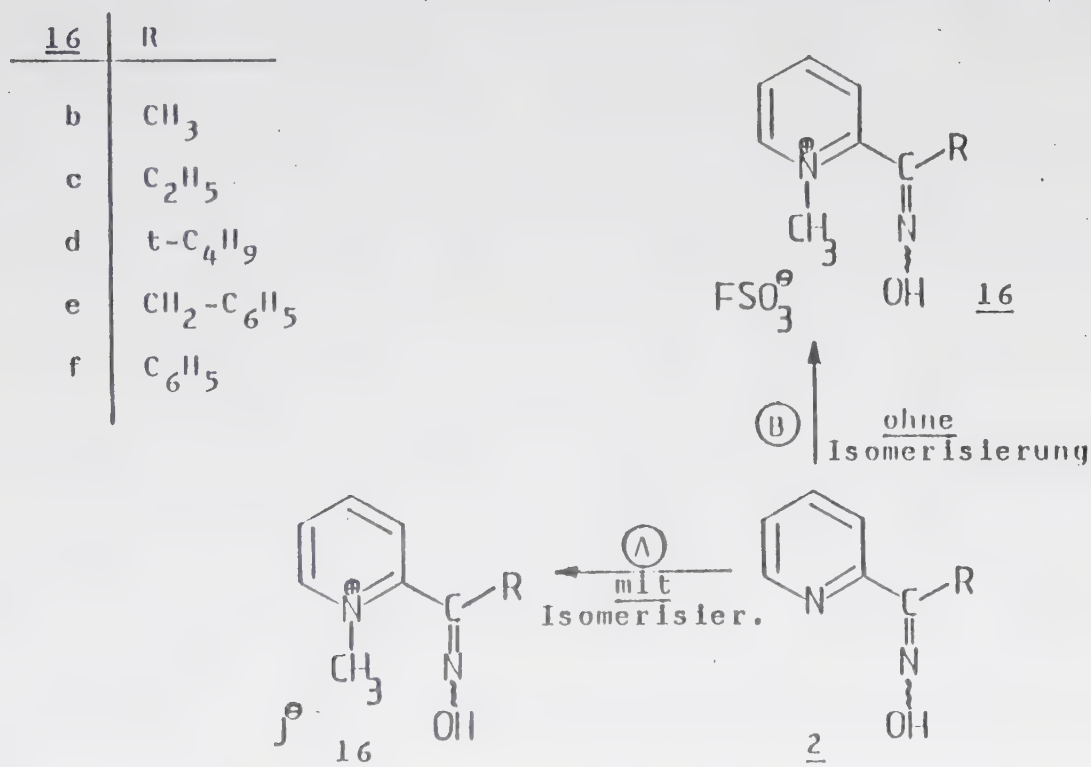
¹H - NMR - Daten der 2-Acylaminopyridine 3 und der Pyridin-
-2-carbonsäure-N-alkylamide 4 (δppm/TMS)

Vbdg.	NH	H(3)	H(4)	H(5)	H(6)	R
3b	10,42 s	8,06 dd	7,73 dt	7,05 t	8,26 dd	2,09 s (CH ₃)
4b	~8,7 m	s. Abb. 6a	S. 41	7,67 m	8,67 m	2,99 d (CH ₃) s nach CF ₃ COOD
3c	10,36 s	8,11 dd	7,74 dt	7,05 t	8,30 dd	1,08 t (CH ₃); 2,4 q (CH ₂)
4c	~8,7 m	s. Abb. 6b	S. 42	7,69 m	8,68 m	1,14 t (CH ₃); 3,3 m (CH ₂) q nach CF ₃ COOD
3d	9,67 s	8,06 dd	7,73 dt	7,07 t	8,30 dd	1,23 s (CH ₃) ₃
4d	8,5 m	8,15 m	7,99 m	7,58 m	8,65 m	1,45 s (CH ₃) ₃
3e	10,65 s	8,07 dd	7,75 dt	7,07 t	8,31 dd	3,73 s (CH ₂); 7,31 s (5 Phenyl)
4e	9,2 m	s. Abb. 6c	S. 43	7,58 m	8,66 m	4,58 d (CH ₂); 7,33 m (5 Phenyl) s nach CF ₃ COOD
3f	10,72 s	8,21 dd	7,84 dt	7,16 t	8,39 dd	7,7 m (5 Phenyl)
4f	10,58 s	8,15 m	7,69 m	7,11 m	8,74 m	7,9 m (5 Phenyl)

+ 0,5M Lösungen in DMSO-d₆ bei 37°. Die chemischen Verschiebungen sind in δ-Einheiten (ppm) gegen TMS als innerem Standard angegeben. Die Kopplungskonstanten liegen im Erwartungsbereich 51).

3. Stereoisomere Oxime der 2-Acyl-N-methylpyridiniumsalze

Nachdem die Oxime der 2-Acylpyridine 2 jeweils in Form ihrer einheitlichen Stereoisomeren zur Verfügung standen, sollte daraus die Darstellung der entsprechenden stereoisomeren Pyridiniumoxime 16 durch Quaternisierung des Pyridin-Stickstoffes versucht werden.



-
- 67) Ch.F. Barfknecht, J.P. Long, F.W. Benz, J.Pharm. Sci. 60, 138 (1971)
- 68) J.B. Wilson, S. Ginsburg, D. Nachmansohn, US 2.816.113, 10 Dec. 1957; C.A. 52, 10121^h (1958)
- 69) J.B. Wilson, S. Ginsburg, Blochim.Biophys.Acta 18, 168 (1955)

Schon früher war beobachtet worden ²⁹⁾, daß die aus den einheitlichen (E)-Ketoximen 2b, 2c, 2e und 2f nach Methode (A) dargestellten Salze 16 trotz anderslautender Literatur ¹¹⁻¹²⁾¹⁸⁾²⁴⁾⁶⁷⁻⁶⁹⁾ keine einheitliche Konfiguration mehr besitzen.

Für die erstmals eingesetzten (Z)-Ketoxime 2b - 2f konnte nun gezeigt werden, daß bei Methylierung nach Methode (A) (mit Methyljodid in siedendem Nitrobenzol ⁶⁸⁾) ebenfalls nur Isomerengemische der Salze 16 erhalten werden, deren Hauptanteil vom jeweiligen (Z)-Isomer gebildet wird.

Der Grund für die nach Methode (A) auftretende Isomerisierung dürfte die hohe Umsetzungstemperatur sein ⁶⁷⁾, die man zur Erzielung vernünftiger Ausbeuten anwenden muß.

Daher wurde die Methylierung der Oxime 2 mit Fluorsulfonsäuremethylester ('Magic-Methyl') in wasserfreiem Ether bei 0° C vorgenommen (Methode (B)). Dabei blieb die Konfiguration der eingesetzten (E)- und (Z)-Ketoxime 2 jeweils vollständig erhalten. Die Ausbeuten lagen zwischen 74% und 86%.

3.1. Darstellung der Ketoxime 16

Die aus der Methylierung von 2b - 2f nach Methode (B) erhaltenen Fluorsulfonate von 16b - 16f stellen, mit Ausnahme von (Z)-16b, (Z)-16c und (Z)-16e, hygroskopische bzw. schlecht kristallisierende Verbindungen dar. Deshalb wurden sie über einen mit Jodid beladenen stark

basischen Anionenaustauscher in die gut kristallisierenden Jodide überführt. Die nach dem Ionenaustausch erhaltenen neutralen, wäßrigen Eluate lieferten nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum und zweimaligem Umkristallisieren aus Ethanol / Ether die sterisch einheitlichen Jodide von 16b - 16f in analysenreiner Form. Eine Isomerisierung konnte dabei in keinem Fall beobachtet werden.

3.2. Darstellung von (Z)-2-PAM ((Z)-16a)

Die Darstellung des quartären Pyridinaldoxim-methojodids (E)-2-PAM ((E)-16a) aus (E)-2a und Methyljodid nach Methode (A) ist seit langem beschrieben ⁶⁷⁾⁶⁸⁾⁶⁹⁾. Bei diesem Pyridiniumsalz handelt es sich um das erste wirksame Kausaltherapeutikum zur Reaktivierung der durch Organophosphate gehemmten Acetylcholinester-Hydrolase. Nach allen bisherigen Untersuchungen liegt "2-PAM" in der (E)-Konfiguration vor.

Seither hat es nicht an Versuchen gefehlt ^{10-13) 68)69)}, das "2-PAM" auch in der (Z)-Konfiguration darzustellen und zu isolieren. Dies war bis heute nur unzureichend * gelungen. Deshalb sollte nun versucht werden, das (Z)-2-PAM über die schonende Darstellungsmethode (B) aus dem einheitlichen Aldoxim (Z)-2a darzustellen.

* I.N.Somin, N.I. Shapranova, A.G. Ivanenko, T.N. Gavrilova
Khim.Geterotsikl.Soedin. 2, 273 (1980)

3.2.1. Versuche zur Synthese von (Z)-16a durch Quaternisierung von (Z)-2a

Überraschenderweise konnte aus den Reaktionsansätzen wiederholt nur eine Verbindung isoliert werden, deren Eigenschaften mit der Struktur eines N-Methylpyridiniumsalzes nicht vereinbar waren.

Die Schmelzpunkte der Verbindung selbst und des entsprechenden Pikrates stimmten zwar mit den in der Literatur ⁷⁰⁻⁷¹⁾ für das C-(2-Pyridyl)-N-methylnitron (17) beschriebenen gut überein, das aus 2-Pyridinaldehyd und N-Methylhydroxylamin (Schema 4) dargestellt wurde.

Auch das ¹H-NMR-Spektrum von 17 (Abb. 7) stimmte mit den für Aldonitrone zu erwartenden Daten ⁷²⁻⁷³⁾ gut überein (Tabelle 11).

Es mußte jedoch eine dritte Möglichkeit der Alkylierung berücksichtigt werden: die Bildung des O-Alkylethers 18 in der (Z)- oder (E)-Konfiguration.

In der Literatur ⁶⁶⁾⁷⁴⁾ ist nur (E)-18 beschrieben, dessen ¹H-NMR-Daten (Tabelle 11) sich aller-

70) B. Umezawa, Chem.Pharm.Bull. (Tokyo) 8, 967 (1960)

71) J.R. Hutchinson, G.N. LaMar, W.D. Horrocks jr., Inorg.Chem. 8, 126 (1968)

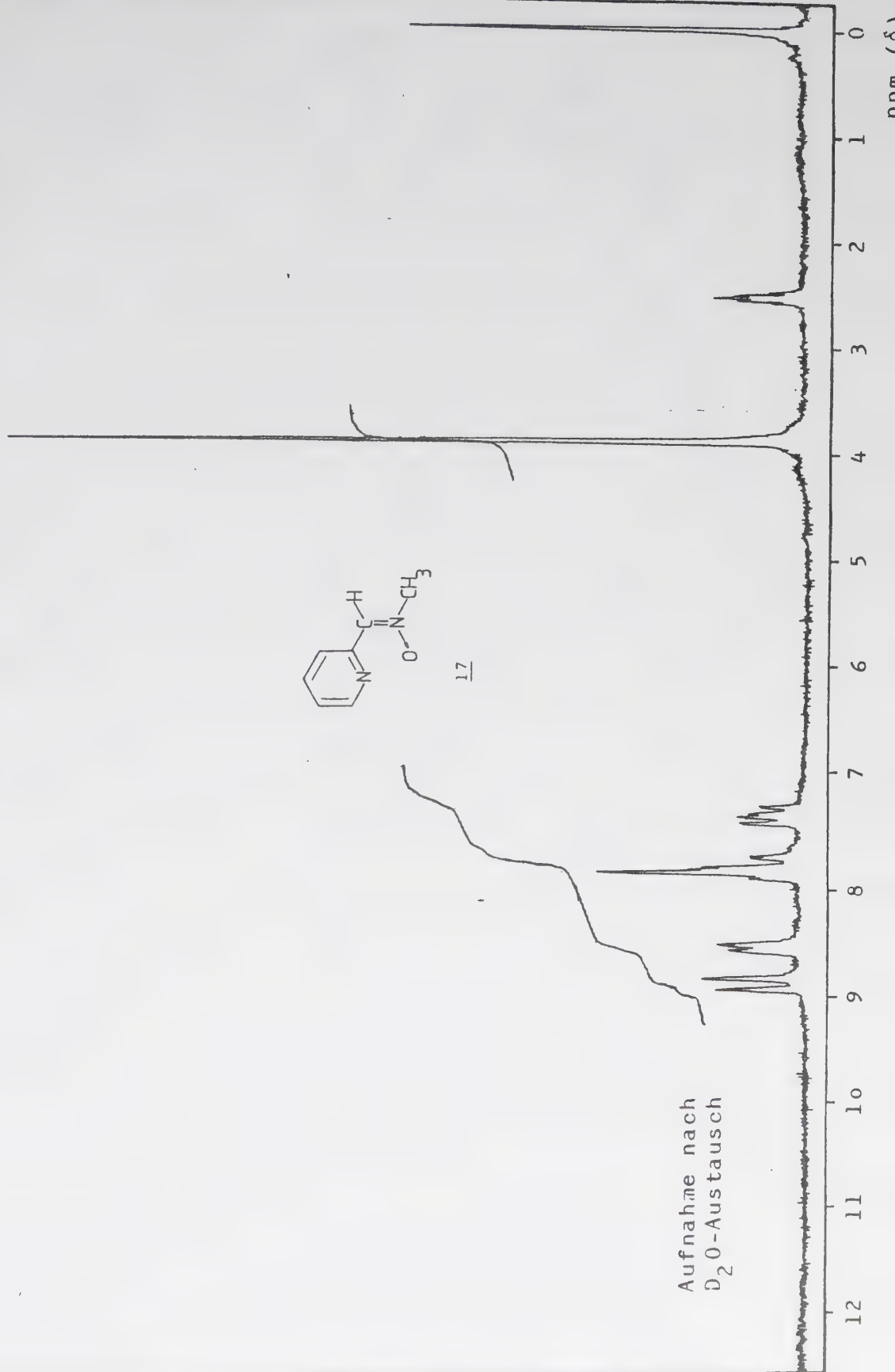
72) H. Stamm in Methodicum Chemicum, Bd. 6, S. 342 ff. Georg-Thieme Verlag Stuttgart 1974

73) E. Buehler, J.Org.Chem. 32, 261 (1967)

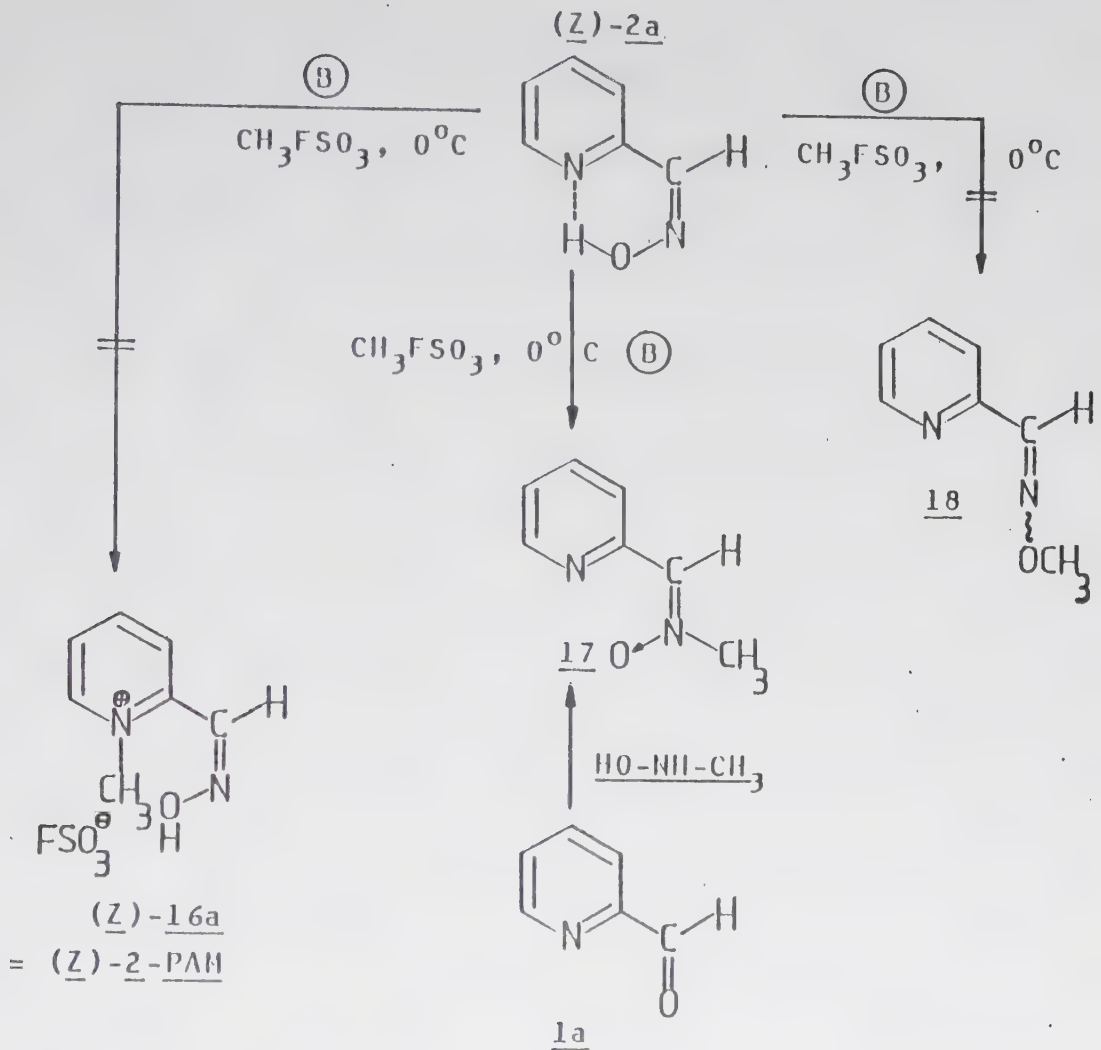
74) I. Hagedorn, W.H. Gündel, J. Hoose, Ch. Jenter, Arzneim.Forsch. 26, 1273 (1976)

Lösungsmittel: DMSO-d₆; Temp.: konst. 28°; innerer Standard: TMS; D₂O-Austausch s.u.

Abb. 7



Schema 4: Methylierung von (Z)-2a

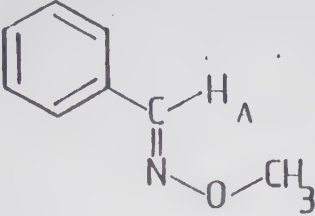
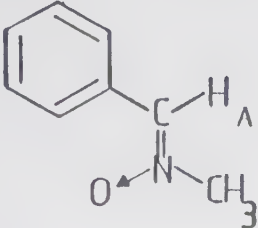
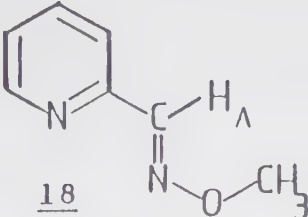
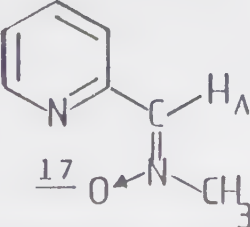


dings erheblich von den für 17 gefundenen Werten unterscheiden. Da jedoch keine Angaben für den Oximether (Z)-18 zur Verfügung standen, blieb ein Rest von Unsicherheit bei der Zuordnung der Substanz 17.

Deshalb wurde 17 zur Absicherung der Struktur einer Photolyse bei 254 nm unterworfen. Es ist bekannt ⁷²⁾ ⁷⁵⁻⁷⁶⁾, daß Aldonitrone dabei in einer elektrocyclischen Reaktion in Oxaziridine ⁷⁷⁾ übergehen, die sich

Tabelle 11

Vergleich der ^1H -NMR-Daten von Aldonitronen und Aldoxim-O-alkylethern in DMSO-d_6 .

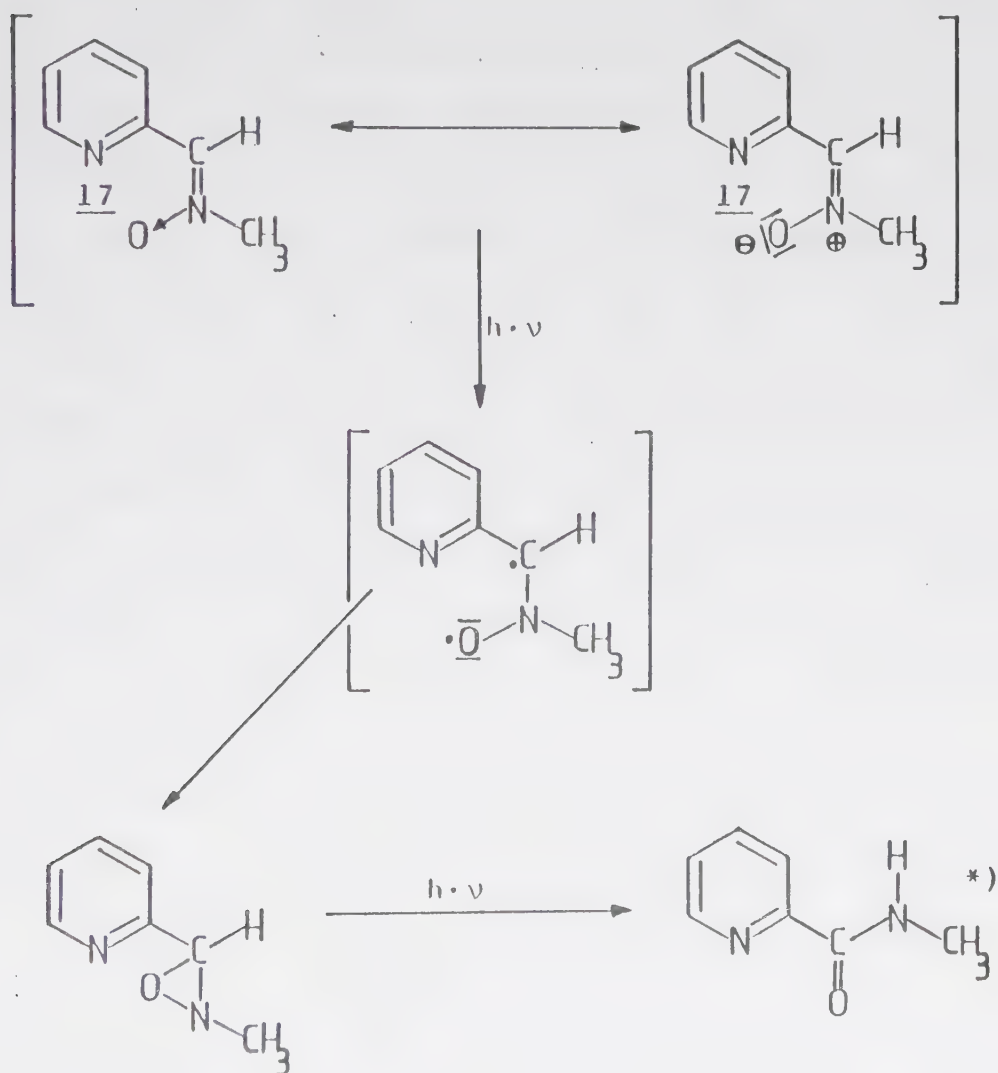
Aldoxim-O-alkylether	H_Λ	CH_3	Lit.
	8,26 ppm	3,95 ppm	73
	7,90 ppm	3,86 ppm	73
 <u>18</u>	6,75 ppm	3,98 ppm	66
 <u>17</u>	7,91 ppm	3,85 ppm	Abb. -7-

-
- 75) G.R. Delpierre, M. Lamchen, Quart.Rev. 19, 329 (1965)
- 76) W. Rundel in Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl), Bd. 10/4, S. 428, Georg-Thieme Verlag Stuttgart 1968
- 77) J.S. Splitter, T.M. Su, H. Ono, M. Calvin, J.Am. Chem. Soc. 93, 4057 (1971)
- 78) G.F. Field, L.H. Sternbach, J.Org.Chem. 33, 4438 (1968)
- 79) F. Kröhnke, Liebigs Ann.Chem. 604, 203 (1957)

bei weiterer Bestrahlung in das entsprechende Carbonsäureamid ⁷⁸⁾ umlagern. Hierfür kommt wahrscheinlich ein radikalischer Mechanismus in Frage ⁷⁸⁻⁷⁹⁾.

Nach vierstündiger Bestrahlung von 17 in Ether bei 254 nm konnte das Pyridin-2-carbonsäure-N-methylamid ^{*)} in quantitativer Ausbeute isoliert werden. Damit war 17 als Nitron eindeutig charakterisiert (Schema 5).

Schema 5: Umlagerung des Nitrons 17 durch Photolyse



^{*)} ist identisch dem Beckmann-Umlagerungsprodukt 4b,
s. S. 26!

Während also nach Methode (B) bei den Pyridin-ketoximen 2b - 2f - unabhängig von ihrer Konfiguration - und beim (E)-konfigurierten Aldoxim (E)-2a zunächst ausschließlich der Pyridin-Stickstoff alkyliert wird, kommt es bei der Methylierung des (Z)-Aldoxims (Z)-2a bevorzugt zur Reaktion am Hydroxyiminostickstoff. Der Oxim-Sauerstoff als drittes nukleophiles Zentrum beteiligt sich in keinem Fall an der Reaktion.

Als Ursache für das besondere Verhalten des (Z)-Aldoxims kann dessen starke Wasserstoffbrücke allein nicht in Frage kommen, denn auch bei den (Z)-Ketoximen 2b, 2c und 2e kommt es zur Ausbildung derartiger Chelate (vgl. S. 22). Die Substitution des Aldoxim-Wasserstoffes durch Alkyl- bzw. Arylreste trägt bei den (Z)-Ketoximen offenbar verstärkt zur Nukleophilie des Pyridin-Stickstoffes bei, zumal hier die sterische Hinderung mit zunehmender Raumerfüllung der Reste "R" einen Angriff des Alkylierungsmittels am exocyclischen Stickstoff erschwert.

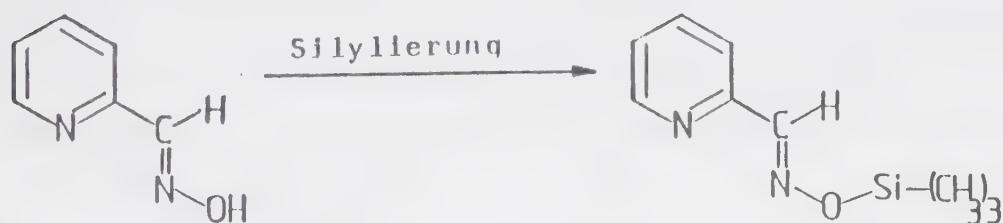
3.2.2. Versuche zur Silylierung von (Z)-2a

Um die Alkylierung des Pyridin-Stickstoffes von (Z)-2a doch noch zu ermöglichen, sollte zunächst versucht werden, den O-Silylether von (Z)-2a darzustellen, dessen Alkylierung und nachfolgende Hydrolyse zum gesuchten (Z)-16a ((Z)-2-PAM) führen könnte.

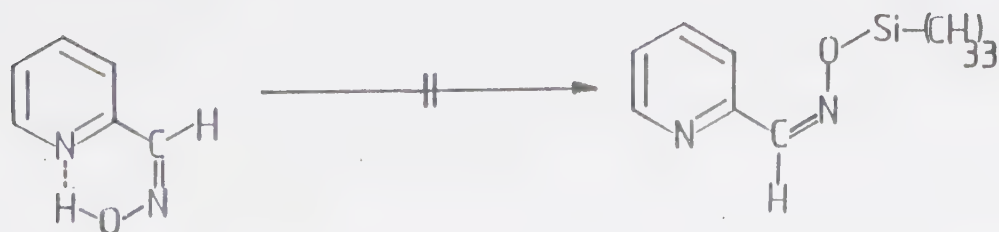
O-Silylether von Oximen erhält man bei der Umsetzung von Oximen mit Chlortrialkylsilanen in Gegenwart von Pyridin ⁸⁰⁾.

Während die Darstellung des O-Trimethylsilylethers von (E)-2a mit Trichlorsilan gelang, scheiterten alle Versuche, einen entsprechenden O-Silylether von (Z)-2a zu erhalten. Als Silylierungsmittel wurden dabei verwendet:

Trimethylchlorsilan, N-Trimethylsilylacetamid und Hexamethyldisilazan.



(E)-2a



(Z)-2a

80) A.E. Pierce in Silylation of Organic Compounds, Pierce Chem. Comp. Rockford (Illinois) 1968

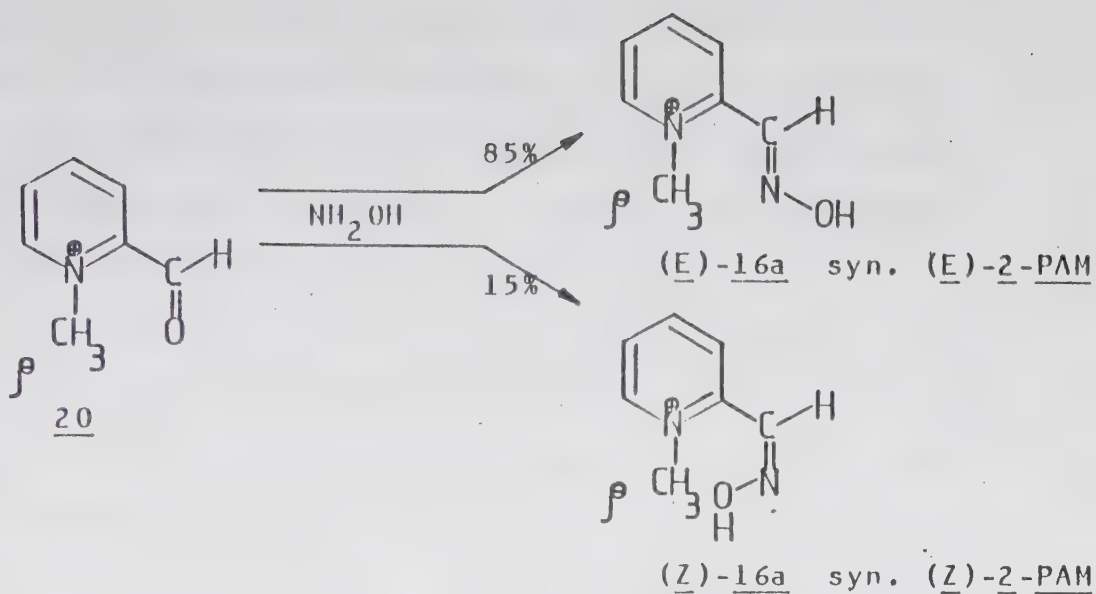
Aus den Reaktionsansätzen ließ sich kein definiertes Produkt isolieren. Es konnte lediglich nachgewiesen werden, daß es zu einer Isomerisierung des eingesetzten (Z)-2a zu (E)-2a kam.

3.2.3. Oximierung von 2-Formyl-1-methylpyridiniumjodid

Nachdem alle Versuche gescheitert waren, (Z)-16a durch selektive Methylierung des Pyridinstickstoffes von (Z)-2a zu erhalten, sollte die Darstellung über eine Oximierung des 2-Formyl-1-methylpyridiniumsalzes (2o) versucht werden.

WILSON ²⁴⁾ hatte schon 1957 von zwei isomeren Aldoximsalzen nach der Oximierung von 2-Formyl-1-methylpyridiniumjodid (2o) in methanolischer Kalilauge bei -5° C berichtet, doch POZIOMEK ¹¹⁾ hatte 1961 erkannt, daß es sich bei diesen beiden Verbindungen um (E)-2-PAM und ein instabiles Carbinolaminderivat von (E)-2-PAM handelte..

Bei der Umsetzung von 2-Formyl-1-methylpyridiniumjodid (2o) mit Hydroxylamin in siedendem Wasser nach SCHOFIELD ⁸¹⁾ entstand jedoch tatsächlich ein Gemisch aus (Z)-2-PAM und (E)-2-PAM ((Z;E)-16a).



Da eine Probe des erhaltenen Gemisches im ^1H -NMR-Spektrum jedoch nur einen Anteil des (Z)-Isomeren von weniger als 15% (wie bestimmt vgl. S. 74) zeigte, wurden keine Versuche zu dessen Isolierung unternommen.

3.2.4. Photoisomerisierung von (E)-2-PAM

Da bisher alle Versuche zur gezielten Darstellung von (Z)-2-PAM gescheitert waren, wurde (E)-16a ((E)-2-PAM) der Photoisomerisierung bei 254 nm unterworfen. 1974 hatten LEHN und CREPAUX ⁸²⁾ ein ^{15}N -präpa-

81) B.J. Gregory, R.B. Moodie, K. Schofield, J.Chem. Soc.(B) 1687 (1970)

82) D. Crepaux, J.M. Lehn, Org.Magn.Res. 7, 524 (1975)

riertes (E)-2-PAM bei 254 nm bestrahlt. Nach vier Stunden konnten sie mit Hilfe der ^{15}N -NMR-Spektroskopie das entstandene Isomerengemisch von (Z)-2-PAM und (E)-2-PAM durch Differenzmessung hinsichtlich der ^{15}N -H-Kopplungskonstanten untersuchen. Eine Isolierung des (Z)-2-PAM gelang ihnen jedoch nicht.

Bei der Photoisomerisierung von (E)-16a war sowohl die Wahl des Lösungsmittels als auch die der Strahlenquelle von entscheidender Bedeutung: in den zuerst verwendeten alkoholischen Lösungen von (E)-16a stieg beim Einsatz von Hochdruckbrennern lediglich der Anteil des Dehydratisierungsproduktes 21 mit der Bestrahlungsdauer an; die Anwendung einer Ultra-Lux-Lampe brachte keine Verbesserung: die Hauptmenge von (E)-16a blieb unverändert.

Erst die Wahl von reinem Wasser als Lösungsmittel und die gleichzeitige Verwendung eines Quecksilberniederdruckbrenners lieferten in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdauer (E)-16a und (Z)-16a neben geringfügigen Anteilen des Nitrilsalzes 21 (Tabelle 12).

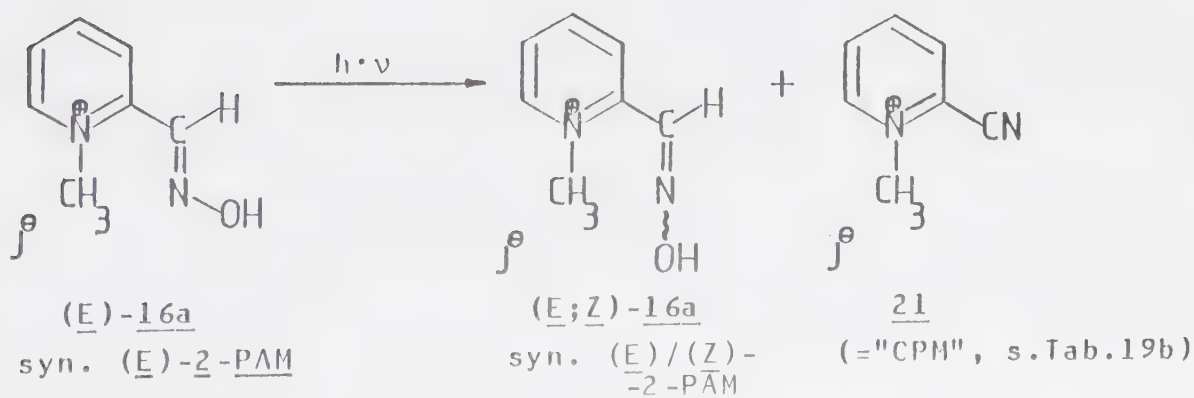


Tabelle 12

Bestrahlung von (E)-2-PAM ((E)-16a) in
Aqua dest. (Auswertung durch ¹H-NMR-Spektroskopie)

Zeit (h)	Isomeren verhältnis (<u>E</u>) : (<u>Z</u>)	Menge an (<u>21</u>) in %	Ausbeute an (<u>E</u> ; <u>Z</u>)- -16a in %	Verlust in %
60	80 : 20	---	73	27
95	60 : 40	5	70	25
137	70 : 30	5	68	27
194	65 : 35	7	65	28
256	60 : 40	10	67	23
500	50 : 50	18	45	37

Versuche, die Analytik der Bestrahlungsansätze mit chromatographischen Methoden ⁸³⁾ durchzuführen, scheiterten ebenso wie alle Anstrengungen, eine Auftrennung von (E)-16a und (Z)-16a durch Elektrophorese auf puffergetränkten Schichten von Kieselgel, Polyamid oder Cellulose zu realisieren. Nur über die ¹H - NMR - Spektren der Bestrahlungsgemische und deren Auswertung durch Vergleich mit den beiden Signalen der N-CH₃-Protonen ergab sich die quantitative Zusammensetzung des vorliegenden Bestrahlungsgemisches (vgl.S.74).

Aus der Tabelle 12 geht hervor, daß sich nach einer Bestrahlungszeit von rund 100 Stunden ein etwa 40proz. Anteil des (Z)-Isomeren neben relativ wenig De-

83) H. Kuhn, J.Chromatogr. 41, 481 (1969)

hydratisierungsprodukt 21 gebildet hatte. Etwa 25 % des eingesetzten Salzes (E)-16a gingen dabei durch die Bildung gelb gefärbter Polymerisate verloren, wobei die Art des Anions unerheblich war.

3.3. Trennung des Photolysegemisches aus (E)-2-PAM und (Z)-2-PAM

Dünnschicht- und säulenchromatographische Versuche durch Trennung eines nach rund 100 Stunden erhaltenen Gemisches aus (E)- und (Z)-2-PAM ((E;Z-16a)) brachten auch bei Verwendung der verschiedensten Sorbentien (Cellulose, Polyamid, Kieselgel und Aluminiumoxide unterschiedlicher pH-Abstufungen) keinen Erfolg. Durch mehrfaches Umkristallisieren des Photoisom.-Rohproduktes aus Isopropanol / Ether konnte lediglich der geringe Anteil des N-Methyl-2-cyano-pyridiniumsalzes 21 entfernt werden.

Ebenso unbefriedigend verliefen die Versuche, mit Hilfe der Gegenstromverteilung nach CRAIG ³⁶⁾ und einem optimierten Lösungsmittelsystem (Unterphase: Aceton / Methylenchlorid / Acetonitril; Oberphase: Wasser (!)) eine Anreicherung des (Z)-Isomeren zu erreichen.

Als letzte Möglichkeit zur Isolierung von (Z)-16a aus dem Bestrahlungsgemisch von (E;Z)-16a führte die wiederholte fraktionierte Kristallisation zum bedingten Erfolg. Das Gemisch aus der Bestrahlung wurde als Rohprodukt zunächst in minimaler Menge Ethanol gelöst

und durch dreimalige Kristallisation von der Hauptmenge des schwerer löslichen (E)-Anteils befreit. Die mit dem (Z)-Isomeren angereicherte Mutterlauge (70% (Z)-Anteil) wurde zur Trockene gebracht und das kristalline Gemisch mit wenig Acetonitril verrieben, wobei sich hauptsächlich das Nitrilsalz 21 löste. Nach dem Abdekantieren des Acetonitrils wurde der Rückstand anschließend in viel Acetonitril bei 30° C gelöst und durch Zugabe von Methylenchlorid fraktioniert gefällt. Die jeweils letzte Fraktion enthält (Z)-2-PAM, welches nach NMR-Analyse nur noch mit 5% des (E)-Isomeren verunreinigt war (Abb. 8).

Alle Versuche, durch weiteres Umkristallisieren ein noch reineres Produkt zu erhalten, scheiterten daran, daß (Z)-16a in allen ausprobierten Lösungsmitteln besser löslich war als (E)-16a.

Ebenso scheiterten alle Versuche, durch Variation des Anions (z.B. Perchlorat, Methosulfat, Tetraphenylborat) noch bessere Ergebnisse zu erzielen.

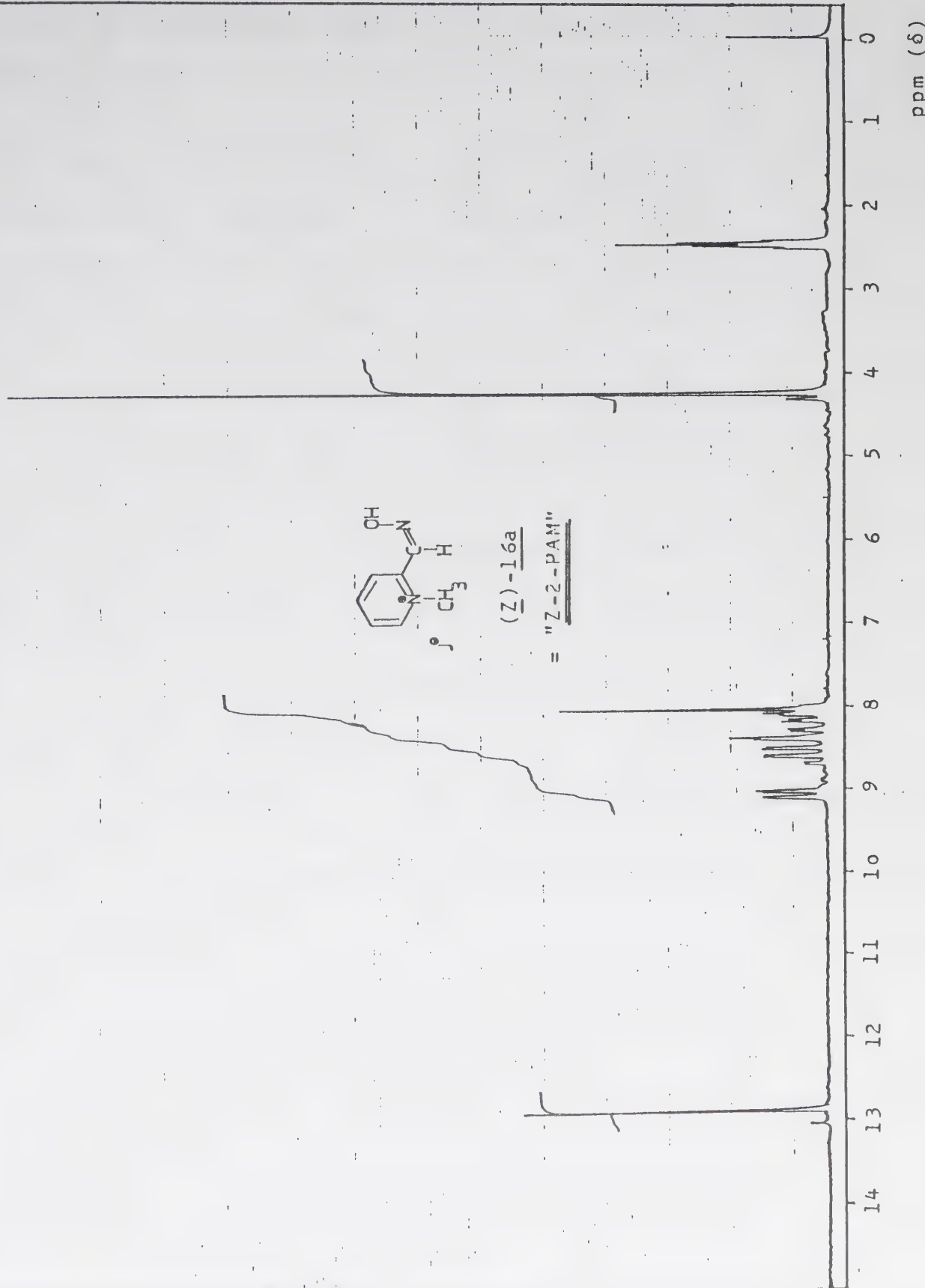
3.4. Spektroskopische Untersuchungen der 2-Acyl-pyridiniumsalze 16

3.4.1. UV - Spektroskopie

Die in Methanol und Wasser aufgenommenen UV-Spektren der stereoisomeren Jodide 16 unterscheiden sich in Lage und Intensität ihrer Absorptionsmaxima (Tabelle 13). Das längerwellige Maximum

Lösungsmittel: DMSO-d₆; Temp.: konst. 37°; innerer Standard: TMS

Abb. 8



des Aldoxims (E)-16a zeigt im Vergleich zum Maximum des (Z)-Isomers eine deutliche Rotverschiebung sowohl in Wasser (14 nm) als auch in Methanol (7 nm).

Dieser Effekt ist bei den isomeren Ketoximsalzen 16 nicht so ausgeprägt. Zwar sind auch hier die Absorptionsbanden der (E)-Formen, mit Ausnahme von 16d und 16f, in geringem Maß langwellig verschoben, doch beträgt die Rotverschiebung max. 6 nm (16b) in Methanol und 3 nm (16b, 16c, 16e) in Wasser.

Beim Übergang von Methanol und Wasser auf 0,1 N Natronlauge als Lösungsmittel resultiert für alle Oximsalze 16 jeweils ein neues, längerwelliges Maximum ($\lambda_{\max}^3$). Hierbei lassen sich drei Gruppen differenzieren:

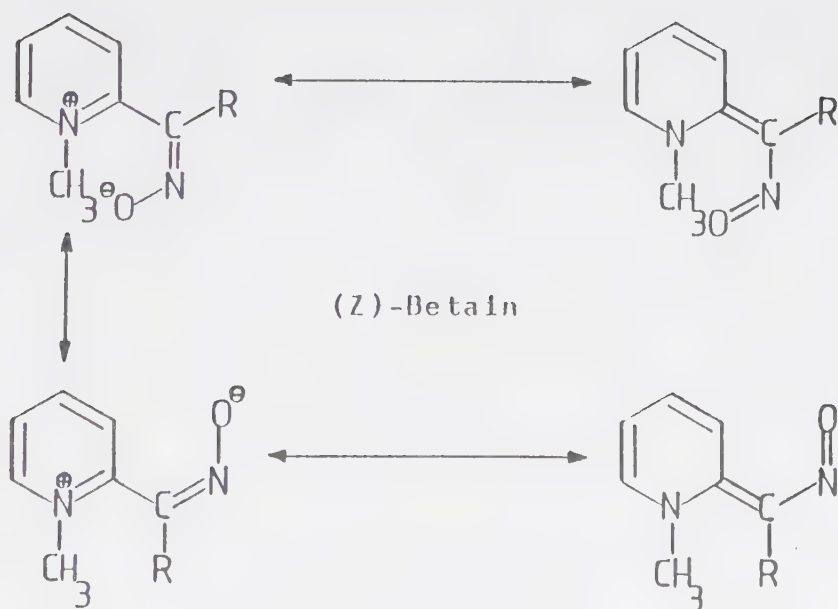
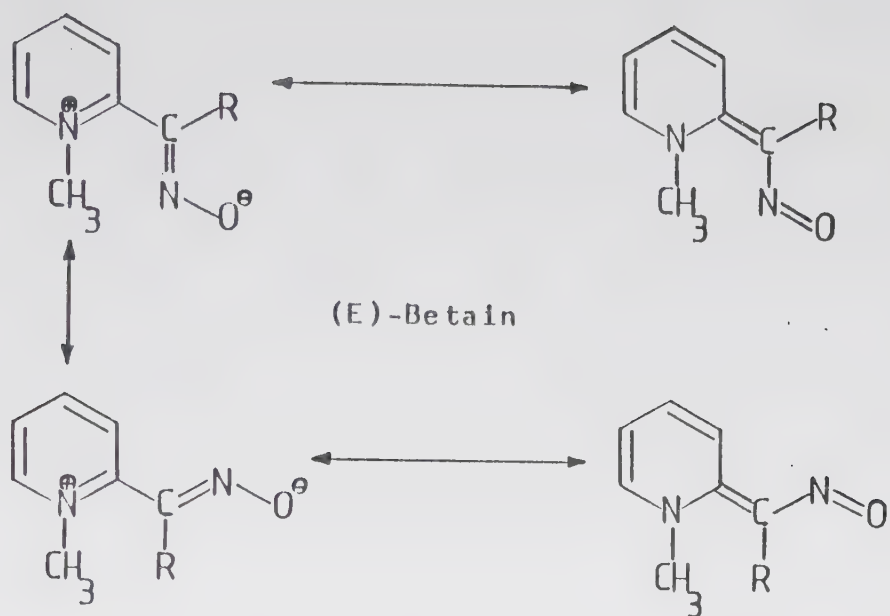
a) die Aldoxime 16a und die Ketoxime 16f bilden das neue Maximum bei 330 nm aus;

b) bei den Ketoximsalzen 16b, 16c und 16e liegt das längerwellige Maximum um 320 nm;

c) bei den Ketoximsalzen 16d liegt das Maximum der Absorption nicht über 310 nm.

Diese Absorptionsmaxima entstehen durch Deproportionierung der Oximfunktion von 16, wobei sich hier im Unterschied zu den nicht quaternisierten Oximen 2 mesomeriefähige Betaine ausbilden können. Dabei absorbieren die (E)-Formen, mit zwei Ausnahmen, bei kürzerer Wellenlänge als diejenigen der (Z)-Formen. Als Ursache dieses Effektes kommt die trans- bzw. cis-Anordnung von Heteroaromat und Oximatsauerstoff in Frage, die sich jedoch nur bei ebener Anordnung der Chromo-

Schema 6:



Lage der UV-Absorptionsmaxima (nm/lge) der
isomeren Jodide 16 in Methanol und Wasser

	Methanol		Wasser	
	$\lambda_{\max}^1$	$\lambda_{\max}^2$	$\lambda_{\max}^1$	$\lambda_{\max}^2$
R = H	(E)-a	218 (3,82)	293 (2,82)	221 (3,98) 288 (3,74)
	(Z)-a	216 (3,89)	286 (2,44)	220 (3,90) 274 (2,80)
R = CH ₃	(E)-b	212 (3,41)	281 (2,68)	219 (3,72) 269 (2,59)
	(Z)-b	215 (3,53)	275 (2,55)	221 (3,81) 266 (2,53)
R = C ₂ H ₅	(E)-c	214 (3,82)	265 (2,72)	220 (3,79) 263 (2,68)
	(Z)-c	216 (3,77)	261 (2,65)	222 (3,80) 260 (2,61)
R = t-C ₄ H ₉	(E)-d	216 (3,89)	262 (2,77)	221 (3,69) 261 (2,72)
	(Z)-d	212 (3,87)	264 (2,85)	219 (3,75) 262 (2,79)
R = CH ₂ -C ₆ H ₅	(E)-e	211 (4,10)	265 (2,62)	218 (4,04) 265 (2,58)
	(Z)-e	213 (4,05)	262 (2,56)	219 (3,96) 262 (2,50)
R = C ₆ H ₅	(E)-f	209 (3,89)	250 (2,67)	219 (3,81) 256 (2,58)
	(Z)-f	211 (3,79)	257 (2,68)	219 (3,75) 258 (2,59)

Tabelle 14

Lage der UV-Absorptionsmaxima (nm/lge)

der isomeren Jodide 16 in 0,1 N NaOH

		0,1 N NaOH		
		$\lambda_{\max}^1$	$\lambda_{\max}^2$	$\lambda_{\max}^3$
R = H	(E)-a	221 (3,65)		332 (3,72)
	(Z)-a	220 (3,74)		332 (3,48)
R = CH ₃	(E)-b	218 (3,59)	253 (2,46)	318 (2,40)
	(Z)-b	218 (3,28)	256 (2,36)	322 (2,38)
R = C ₂ H ₅	(E)-c	218 (3,57)	253 (2,46)	319 (2,40)
	(Z)-c	221 (3,73)	256 (2,36)	322 (2,38)
R = t-C ₄ H ₉	(E)-d	222 (3,88)	258 (2,70)	310 (2,12)
	(Z)-d	218 (3,77)	257 (2,68)	305 (2,15)
R = CH ₂ C ₆ H ₅	(E)-e	219 (3,91)	255 (2,38)	314 (2,29)
	(Z)-e	221 (3,70)	256 (2,52)	320 (2,20)
R = C ₆ H ₅	(E)-f	218 (3,75)	260 (2,94)	332 (2,45)
	(Z)-f	217 (3,58)	262 (3,12)	333 (2,28)

* Differenz zwischen $\lambda_{\max}^2$ in Wasser und $\lambda_{\max}^3$ in 0,1 N NaOH

phore auswirken kann ⁸⁴⁾ (Schema 6). Da diese Voraussetzung wegen des sperrigen t-Butylsubstituenten bei 16d vor allem für die (Z)-Form nicht mehr gegeben ist, fällt hier die Rotverschiebung deutlich geringer aus, so daß sich die Lage der Maxima von (E)- und (Z)-Form im Vergleich zu den übrigen Pyridiniumjodiden 16 scheinbar umkehrt.

Da die beobachteten Effekte insgesamt jedoch gering sind, lassen die UV-Spektren der 2-Acyl-pyridiniumoximsalze 16 keine eindeutigen Aussagen bezüglich der Konfiguration der einzelnen Isomere zu.

Veränderung von 16a im alkalischen Milieu

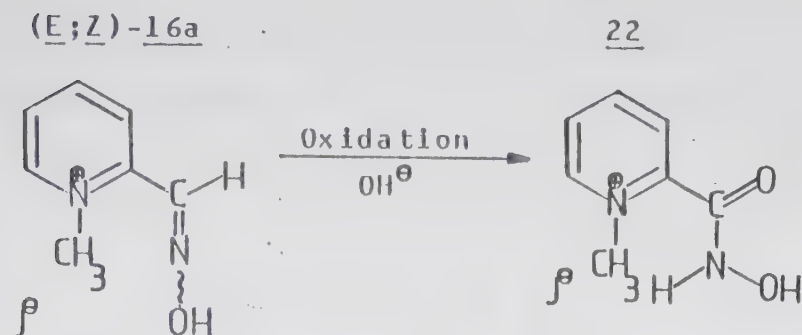
Bei den nach verschiedenen Zeitabständen wiederholten UV-Messungen der Oximsalze 16 in 0,1 N Natronlauge fiel auf, daß sich die Absorptionskurven der Ketoximsalze 16b - 16f nicht verändert hatten.

Dagegen kam es bei den Aldoximen 16a schon nach drei Stunden (Z-Form) bzw. nach fünf Stunden (E-Form) zu einer deutlichen Intensitätsabnahme der Maxima bei 332 nm. Nach 48 Stunden waren die längerwelligen Maxima völlig verschwunden und an deren Stelle hatte sich ein neues Maximum bei 290 nm mit etwa 60% der ursprünglichen Intensität ausgebildet. Diese Veränderung im alkalischen Milieu war zu vernachlässigen, wenn die Lösungen in luftdicht verschlossenen Küvetten aufbewahrt wurden. Der Zersetzung der Aldoximsalze 16a in alkalischer Lösung bei Gegenwart von Luftsauerstoff

84) J. Schnekenburger, Arch.Pharm. (Weinheim) 302,
494 (1968)

könnten verschiedene Ursachen zugrunde liegen:

a) Oxidation zur entsprechenden Hydroxamsäure 22.



Das UV-Spektrum der Vergleichssubstanz ⁸⁵⁾ in 0,1 N-Natronlauge wies jedoch ein Maximum bei 263 nm auf. Darüberhinaus verlief die Eisen-(III)-chlorid-Reaktion negativ, während 22 dabei eine intensiv violett-braune Färbung ergibt.

b) Reaktion nach ZANETTI ⁸⁶⁾.

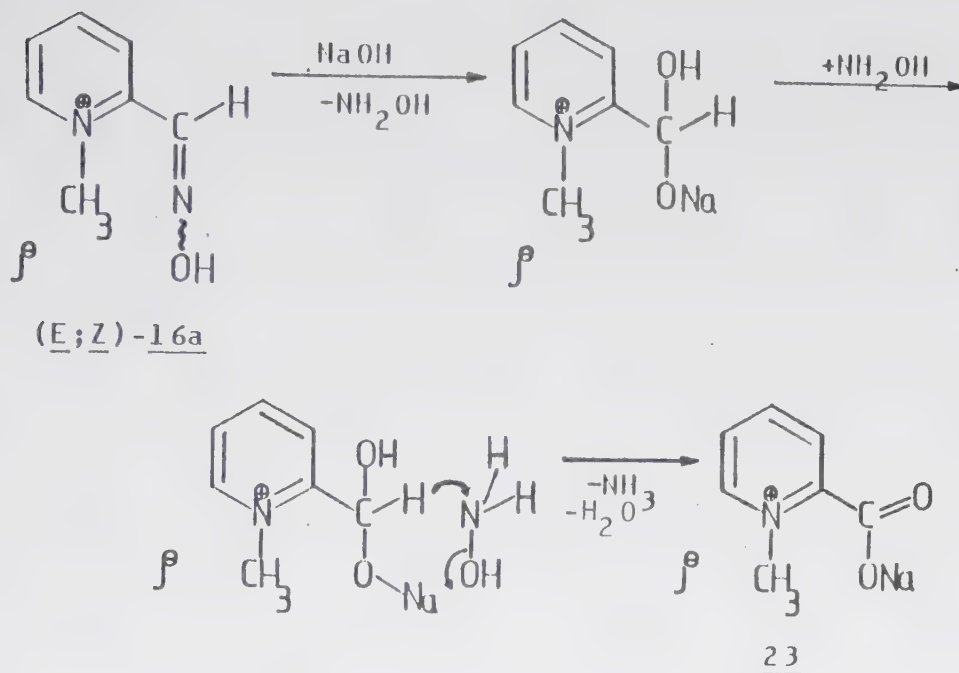
Nach ZANETTI können Aldoxime in alkalischem Milieu im Sinne einer Disproportionierung die entsprechende Carbonsäure 23 liefern. Dabei erfolgt zunächst eine Spaltung in die Komponenten von 16a, gefolgt von einer NaOH-Addition zu einem cyclischen Komplex, dessen Zerfall unter Hydridverschiebung das Na-salz der 2-Pyridincarbonsäure 23 (Homarin) liefert.

UV-Spektren von 23 in 0,1 N Natronlauge zeigten

85) B.E. Hackley jr., R. Plapinger, M. Stolberg,
T. Wagner-Jauregg, J.Am.Chem.Soc. 77, 3651 (1955)

86) L.F. Fieser, M. Fieser, Organische Chemie, 2.Aufl.
Verlag Chemie (Weinheim/Bergstraße) 1976

Jedoch ein Absorptionsmaximum bei 270 nm. Abgesehen von der geringen Alkalikonzentration der Messlösung mußte ein solcher Reaktionsablauf auch deshalb ausscheiden, weil er keine befriedigende Antwort auf die reaktionsbestimmende Gegenwart des Luftsauerstoffes gibt.



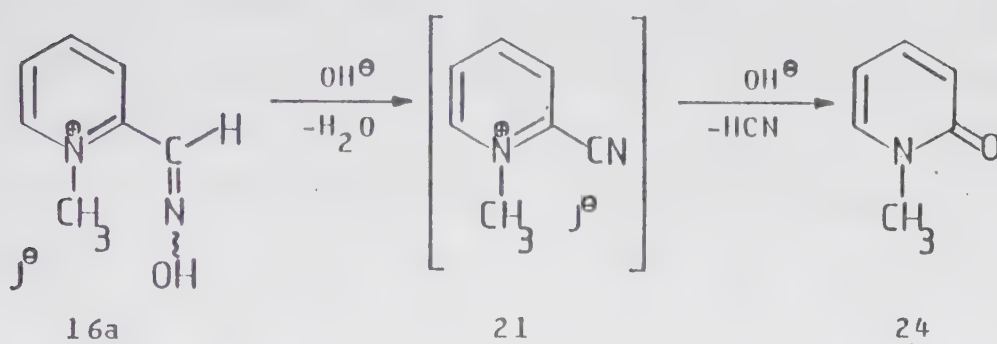
c) Dehydratisierung und Folgereaktion

Eine weitere Möglichkeit zur Erklärung der beobachteten Veränderung ist die Umwandlung der Aldoximsalze 16a zum Nitrilsalz 21, dessen Reaktion mit wäßrigem Alkali zur Bildung des N-Methyl-2-pyridons 24 führt ⁸⁷⁻⁸⁸). Das Maximum von 24 in 0,1 N Natronlauge liegt bei 290 nm und wäre mit dem beobachteten Maximum vereinbar. Nach WEBER ²⁹⁾ ist (E)-16a zwar unter

87) R.J. Ellin, J.Am.Chem.Soc. 80, 6588 (1958)

88) K. Schoene, Diss. Universität Freiburg/Brsg. (1967)

Luftabschluß und max. 5° C über einen Zeitraum von 48 Stunden in alkalischem Milieu als stabil anzusehen, demgegenüber gelang aber der Nachweis von "CPM" 21 und 24 aus einem Ansatz, bei dem (E)-16a ((E)-2-PAM) in 1 N Natronlauge an der Luft über 14 Tage stehengelassen wurde.



Unter diesen experimentellen Bedingungen kommt also der Bildung des N-Methyl-2-pyridons 24 aus 16a eine nicht mehr zu vernachlässigende Bedeutung zu ⁸⁹⁾.

89) A.R. Katritzky, M. Shanta, J.Chem.Soc. Chem.Comm. 1979, 552

3.4.2. IR - Spektroskopie

Die IR-Spektren der 2-Acyl-pyridiniumoximsalze 16 in KBr unterscheiden sich nur geringfügig voneinander und gestatten keine eindeutigen Aussagen über die jeweilige Konfiguration (Tabelle 15).

Im Bereich der C=N-Valenzschwingung liegt - abgesehen von (Z)-16f - das Maximum der Absorption bei den (E)-Formen um 5 bis 15 Wellenzahlen höher als bei den (Z)-Formen. Weitere Unterschiede ergeben sich innerhalb der "fingerprint-Region", jedoch können diese nur bedingt zur Deutung herangezogen werden ⁹⁰⁾.

Dagegen unterscheiden sich die einzelnen Isomere von 16 im Bereich der O-H-Valenzschwingungen zwischen 3000 und 3200 cm⁻¹. Dort absorbieren die (Z)-Formen - mit Ausnahme von (Z)-16d und (Z)-16f - um etwa 30 Wellenzahlen tiefer als die (E)-Formen ⁹¹⁾.

3.4.3. ¹H - NMR - Spektroskopie

Die ¹H-NMR-Spektren von 16 in DMSO-d₆ zeigen deutliche Unterschiede in den konzentrationsunabhängigen Resonanzlagen ⁴⁹⁾ der Oxim-Hydroxylprotonen: die Signale der (Z)-Isomeren sind in allen Fällen diamagnetisch gegenüber den (E)-Formen verschoben (Tabelle 16).

90) D.H. Williams, I. Fleming, Spektroskopische Methoden zur Strukturaufklärung, Georg Thieme Verlag Stuttgart

91) R.J. Mesley, D.F. Wardleworth, Spektrochim.Acta 26, 1753 (1970)

Lage der unterschiedlichen IR - Absorptionsbanden
(cm^{-1}) der isomeren Pyridiniumsalze 16 in KBr

	$\nu\text{C}=\text{N}$	$\delta\text{N}-\text{O}$	$\delta\text{C}-\text{H}$	$\delta\text{O}-\text{H}$	$\nu\text{N}-\text{O}$	$\delta\text{O}-\text{H}$
R = H	(E)-16a	1630	1505	1430	1312	1002
	(Z)-16a	1620	1505	1440	1345	1005
R = CH_3	(E)-16b	1635	1515	1460	1285	1035
	(Z)-16b	1620	1505	1430	1297	1030
R = C_2H_5	(E)-16c	1625	1515	1460	1280	1032
	(Z)-16c	1620	1515	1455	1280	1015
R = t- C_4H_9	(E)-16d	1625	1505	1450	1277	1030
	(Z)-16d	1620	1505	1450	1295	1020
R = $\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$	(E)-16e	1625	1505	1455	1270	1070
	(Z)-16e	1620	1505	1455	1285	1070
R = C_6H_5	(E)-16f	1625	1515	1455	1275	1012
	(Z)-16f	1625	1510	1445	1280	1007

Tabelle 16

Chemische Verschiebung der Oxim-Hydroxylprotonen der Oximsalze 16 (DMSO-d₆; δppm/TMS)

<u>16</u>	(<u>E</u>)	(<u>Z</u>)	(<u>Z</u>) - (<u>E</u>)
a	13,07	12,94	- 0,13
b	12,46	11,96	- 0,40
c	12,44	12,06	- 0,38
d	12,38	12,13	- 0,25
e	12,84	12,28	- 0,56
f	13,12	12,87	- 0,25

Mit Zunahme der sterischen Hinderung dreht sich der 2-Substituent aus der Ebene des Heteroaromaten heraus, wodurch das Oxim-Hydroxylproton der (Z)-Isomeren - im Gegensatz zur (E)-Konfiguration - in dessen abschirmenden Anisotropiebereich gelangt.

Normalerweise erscheinen die Signale der Protonen H3 und H5 in den Spektren der Salze 16 nicht getrennt. Nur beim Ketoximsalz (Z)-16e erleidet das Proton H3 eine deutliche Hochfeldverschiebung.

Die benzyllischen Methylenprotonen kommen darüber hinaus hier bei gleicher Feldstärke zur Resonanz wie die N-CH₃-Protonen und ergeben ein einziges Signal für 5 Protonen (Tabelle 17).

Die Derivate 16f zeigen für die (Z)-Form ein Singulett für den Phenylsubstituenten, während die (E)-Form

¹H-NMR-Daten der isomeren Oxime 16 (δppm/TMS).

	NOH	H3	H4	H5	H6	CH ₃	R
R = H	(E)-a	13,07 s	8,52 dd	8,37 dt	8,08 dt	9,02 dd	4,39 s 8,68 s (α-H)
	(Z)-a	12,94 s	8,34 dd	8,65 dt	8,16 dt	9,12 dd	4,31 s 8,08 s (α-H)
R = CH ₃	(E)-b	12,46 s	8,1 m	8,62 dt	8,1 m	9,09 dd	4,27 s 2,25 s (CH ₃)
	(Z)-b	11,96 s	8,1 m	8,59 dt	8,1 m	9,12 dd	4,17 s 2,30 s (CH ₃)
R = C ₂ H ₅	(E)-c	12,44 s	8,1 m	8,65 dt	8,1 m	9,07 dd	4,25 s 1,13 t (CH ₃)
	(Z)-c	12,06 s	8,1 m	8,68 dt	8,1 m	9,12 dd	4,18 s 1,15 t (CH ₃)
R = t-C ₄ H ₉	(E)-d	12,38 s	8,1 m	8,64 dt	8,1 m	9,07 dd	4,22 s 1,28 s (CH ₃) ₃
	(Z)-d	12,13 s	8,1 m	8,66 dt	8,1 m	9,16 dd	4,17 s 1,23 s (CH ₃) ₃
R = CH ₂ -C ₆ H ₅	(E)-e	12,84 s	8,0 m	8,61 dt	8,0 m	9,07 dd	4,18 s 4,21 s (CH ₂)
	(Z)-e	12,28 s	7,87 dd	8,62 dt	8,13 dt	9,08 dd	4,02 s 7,23 s (5-Phenyl)
R = C ₆ H ₅	(E)-f	13,12 s	8,2 m	8,70 dt	8,2 m	9,09 dd	4,15 s 7,5 m (5-Phenyl)
	(Z)-f	12,87 s	8,1 m	8,74 dt	8,1 m	9,29 dd	4,17 s 7,51 s (5-Phenyl)

* 0,5M Lösungen in DMSO-d₆ bei 37° C. Die chemischen Verschiebungen sind in δ-Einheiten (ppm) gegen TMS als inneren Standard angegeben. Die Kopplungskonstanten liegen im Erwartungsbereich 49).

ein entsprechendes Multiplett aufweist. Das Aromatensingulett deutet auf eine unbehinderte Rotation des Phenylsubstituenten in der (Z)-Konfiguration hin, die nur bei starker Verdrehung aus einer ebenen Konformation heraus und bei genügender Entfernung vom übrigen Molekülrest möglich ist ²⁹).

3.5. Stabilität des (Z)-2-PAM ((Z)-16a)

Mit Hilfe der NMR-Spektroskopie lassen sich eventuelle Veränderungen des (Z)-2-PAM gut analysieren, da die in Frage kommenden Reaktionsprodukte getrennte Signallagen aufweisen. Daher wurden D₂O-Lösungen von (Z)-2-PAM ohne Zusätze sowie nach Zusatz von NaOD, NaHCO₃, KH₂PO₄ und CF₃COOD über einen Zeitraum von 12 Tagen in bestimmten Zeitabständen spektroskopiert (Tabelle 18).

Die beste Stabilität ergab sich bei schwach saurem pH (KH₂PO₄-Lösung; 5% CF₃COOD).

Für eine Beurteilung der Isomerisierung von (Z)-2-PAM in die (E)-Form diente auch hier wiederum (s.S. 58) der jeweilige N-CH₃-Peak als "Bezugssonde"; die relativen Mengenverhältnisse, die durch Vergleich dieser Peaks mit denen der Aldehydprotonen beider Isomere errechnet wurden, sind in Tabelle 18 enthalten.

Die Bildung des Nitrilsalzes 21 und des Pyridons 24 im alkalischen Milieu deckt sich mit den Befunden der UV-Spektroskopie. Dabei konnte die Entstehung des Pyridons 24 besonders gut verfolgt werden, da dessen Protonen bei deutlich höherem Feld zur Resonanz gelangen als die Protonen der Pyridiniumsalze 16a und 21 (Abb. 9).

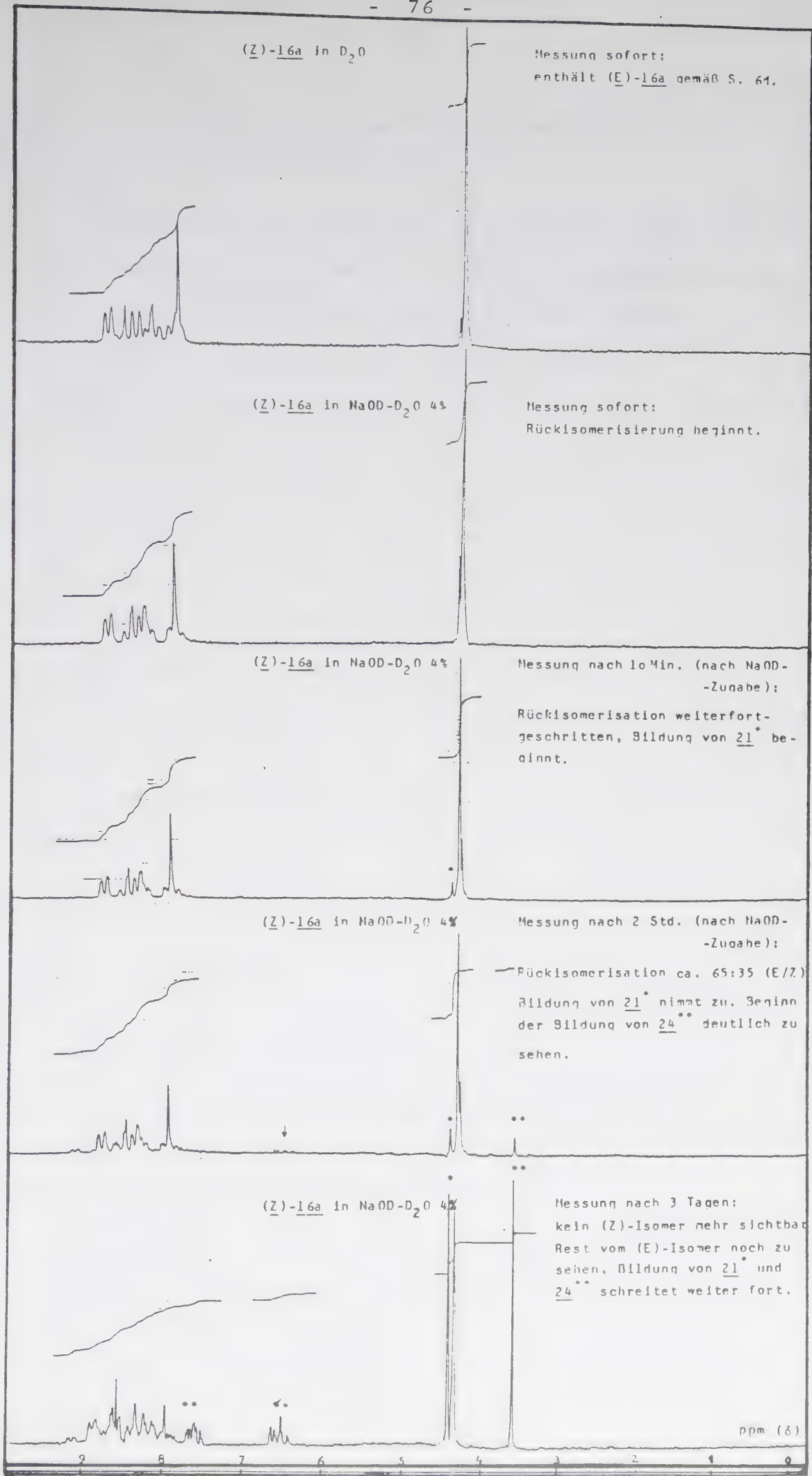
Tabelle 18

Messung der Rückisomerisation von (Z)-16a ((Z)-2-PAM)
in verschiedenen pH-Bereichen durch ¹H-NMR-Spektroskopie

Messung nach	Isomerenverhältnis <u>(Z)</u> zu <u>(E)</u> von <u>16a</u> in %					
	NaOD- D ₂ O 4%	NaHCO ₃ - D ₂ O ges.	D ₂ O	KH ₂ PO ₄ - D ₂ O ges.	CF ₃ COOD D ₂ O 5%	CF ₃ COOD D ₂ O 25%
sofort	90:10	90:10	90:10	95:05	95:05	90:10
10'	80:20	85:15	85:15	95:05	95:05	85:15
30'	75:25	85:15	85:15	95:05	90:10	80:20
60'	70:30	80:20	85:15	95:05	90:10	70:30
2 ^h	65:35	70:30	80:20	90:10	90:10	70:30
5 ^h	55:45	70:30	80:20	90:10	90:10	70:30
12 ^h	50:50	65:35	75:25	85:15	85:15	60:40
1 ^d	*0:35	55:45	70:30	80:20	80:20	50:50
3 ^d	---	*0:35	60:40	75:25	70:30	40:60
7 ^d	---	---	50:50	70:30	70:30	30:70
12 ^d	---	---	---	70:30	60:40	10:90

*In den Spektren erscheinen die Protonensignale des N-Methyl-2-pyridons 24 mit 50% Anteil neben ~15% der entsprechenden Resonanzen des N-Methyl-2-cyanopyridiniumsalzes 21 ("CPM").

Abb. 9



4. O-Ester des (E)-2-PAM und verwandter Oxime
von Acetylpyridiniumsalzen

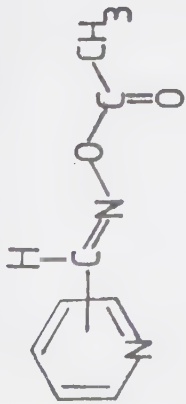
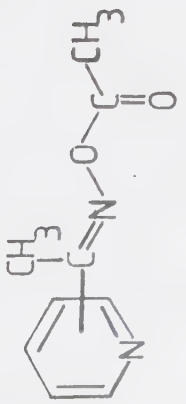
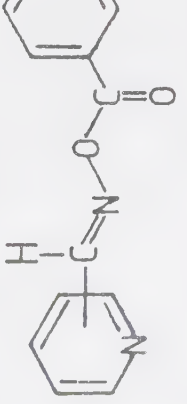
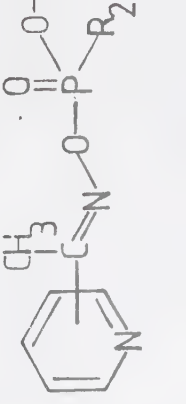
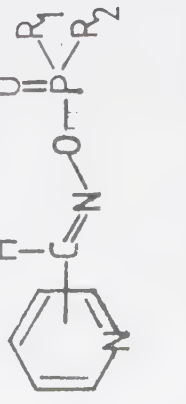
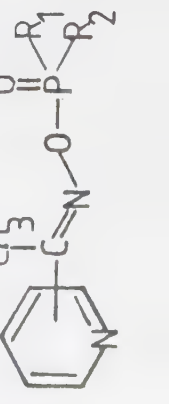
Wegen der Vorstellungen zum Reaktivierungsmechanismus der Organophosphat-gehemmten Acetylcholinester-Hydrolase (s. auch 5.2.) interessierten die Eigenschaften der Oxim-Ester des 2-PAM und analoger Pyridiniumsalze, vor allem im Hinblick auf deren Verhalten in wäßriger Lösung bei verschiedenen pH-Werten.

In der Literatur ist eine Fülle von Oxim-Estern verschiedenen substituierter Acylpyridine beschrieben (Tabelle 19a). Dabei werden die Ester der Ketoxime übereinstimmend ⁹¹⁻⁹³⁾ als relativ hydrolysebeständig beschrieben, während Ester von (E)-Aldoximen wesentlich leichter einer Zersetzung ¹⁾ unterliegen sollen, die über zwei unterschiedliche Reaktionswege verläuft ⁹⁴⁻⁹⁷⁾:

- a) die Hydrolyse zum Oxim, und
- b) die Eliminierung zum Nitril.

-
- 92) C.R. Hauser, C.T. Sullivan, J.Am.Chem.Soc. 55, 4611 (1933)
 - 93) O.L. Brady, S.G. Jarrett, J.Chem.Soc. 1950, 1227;
O.L. Brady, L. Klein, J.Chem.Soc. 1923, 2098
 - 94) J.H. Blanch, J. Anderson, J.Chem.Soc.(B) 169 (1968)
 - 95) C.v.Hooidonk, L. Ginjaar, Chem.Ind.(London) 17, 702 (1968)
 - 96) C.v.Hooidonk, G.W. Kraaij, L. Ginjaar, Rec.Trav. Chim. Pays-Bas 87, 673 (1968)
 - 97) I. Hagedorn, W.H. Gündel, K. Schoene, Arzneim. Forsch. 13, 4 (1963)

Tabelle 19a:

Verschiedene "O-Ester" der Literatur, alle (E)-Konfig.	Stellung	Quant. Best.	Qualit. Best.	Zerfall bei pH 7	Zerfall bei pH>9	Lit.
	-2-	Tit. HAC	DC	2-Pyridin-aldoxim	2-Pyridin-aldoxim	118, 119
	-3-	Tit. HAC	DC	3-Pyridin-aldoxim	3-Pyridin-aldoxim	110
	-4-	Tit. HAC	DC	4-Pyridin-aldoxim	4-Pyridin-aldoxim	110
	-2-	Tit. HAC	DC	2-Ace.pyr.ketoxim	2-Ace.pyr.ketoxim	24
	-3-	Tit. HAC	DC	3-Ace.pyr.ketoxim	3-Ace.pyr.ketoxim	110
	-4-	Tit. HAC	DC	4-Ace.pyr.ketoxim	4-Ace.pyr.ketoxim	110
	-2-	--	--	----	----	--
	-3-	--	--	----	----	120, 121
	-4-	--	--	----	4-Pyridin-aldoxim	97, 116
	-2-	UV	PC	----	2-Ace.pyr.ketoxim	94, 115
	-3-	UV	PC	----	3-Ace.pyr.ketoxim	94
	-4-	UV	PC	----	4-Ace.pyr.ketoxim	94, 115
	-2-	UV	DC, PC	----	2-Pyr.aldox. u. 2-Cyanopyr.	95
	-3-	--	--	----	----	--
	-4-	--	--	----	----	--
	-2-	UV	DC, PC	----	----	96
	-3-	--	--	----	----	--
	-4-	--	--	----	----	--

Demgegenüber findet man keine Angaben über die Darstellung und Eigenschaften von (Z)-konfigurierten O-Estern der Pyridinaldoxime und/oder ihrer quartären Salze. Versuche zur Synthese von Estern anderer Aldoxime mit (Z)-Konfiguration sind zwar schon häufig unternommen worden ¹⁾, sie führten jedoch bisher, mit einer Ausnahme ⁹⁸⁾, jeweils nur zum entsprechenden Nitril ⁹⁹⁻¹⁰⁰⁾.

Was die Oxime quartärer Pyridiniumsalze anbetrifft, so fällt auf, daß in der Literatur zwar eine Reihe entsprechender Ester und deren Eigenschaften beschrieben wurden (Tabelle 19b), doch handelt es sich hierbei meist nur um Derivate von solchen Pyridiniumsalzen, denen selbst keine oder nur schlechte Reaktivierungseigenschaften (s. auch 5.3.) zukommen. Nur in einem Fall wird über die Darstellung eines definierten Phosphonylesters vom (E)-4-PAM berichtet ¹⁰¹⁾. Ester des (E)-2-PAM mit Sarin (= Methanphosphonsäure-isopropylester-fluorid) sollen zwar "in situ" entstehen ¹⁰²⁻¹⁰⁶⁾, doch konnten sie bislang nicht isoliert werden. Dagegen wurde über sogenannte "salzartige" Verbindungen des Typs "N-Methylpyridinium-2-aldoxim-phosphat" ¹⁰⁷⁾ berichtet.

98) E.J. Grubbs, J.A. Villereal, Tetrahedron Lett. 1841 (1969)

99) O.L. Brady, R.P. Mehta, J.Chem.Soc. 1924, 2203

100) O.L. Brady, G.M. McHugh, J.Chem.Soc. 1925, 2415

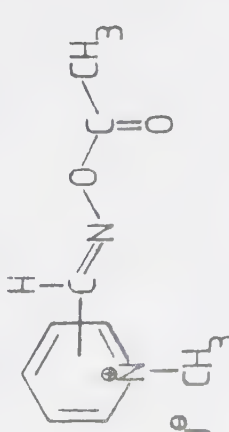
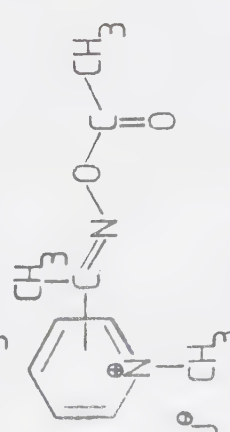
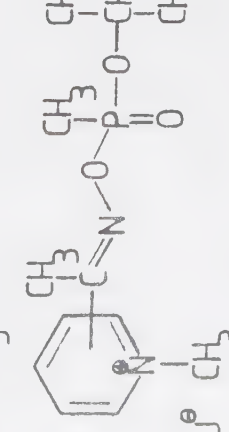
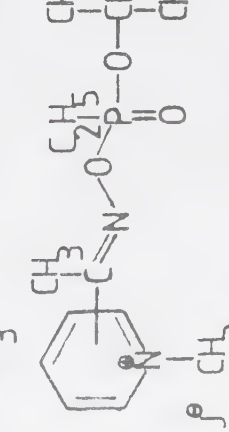
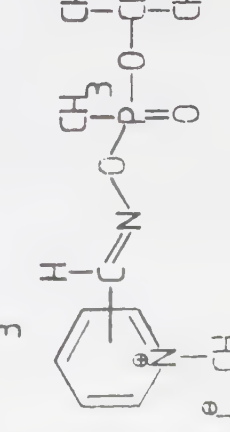
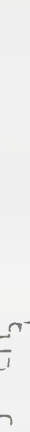
101) B.E. Hackley jr., O.O.Owens, J.Org.Chem. 24,
1120 (1959)

102) J.H. Blanch, J.Chem.Soc. (B) 1965, 937

103) B.E. Hackley jr., G.M. Steinberg, J.C. Lamb,
Arch.Biochem.Biophys. 80, 211 (1959)

104) J.C. Lamb, G.M. Steinberg, Biochim.Biophys.Acta,
89, 171 (1964)

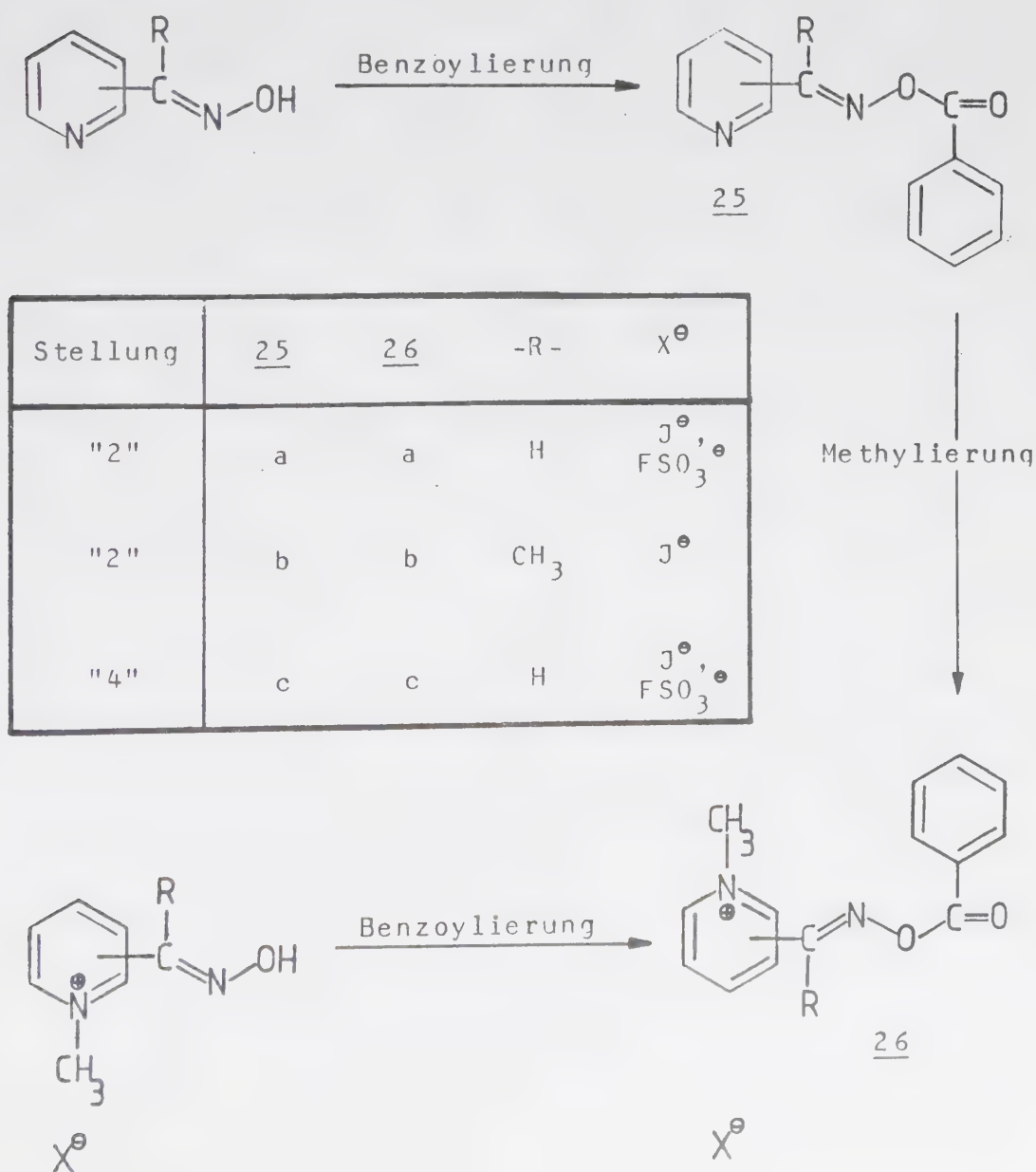
Tabelle 19b:

Verschiedene quart. "O-Ester" der lit., alle (E)-Konfigur.	Stellung	Quant. Best.	Qualit. Best.	Zerfall bei pH 7	Zerfall bei pH>9	Lit.
	-2-	--	--	----	----	---
	-3-	UV	IR	(E)-3-PAM	(E)-3-PAM u. 3-CPM* (95:5)	110 111
	-4-	UV	IR	(E)-4-PAM	(E)-4-PAM u. 4-CPM* (75:25)	110 111
	-2-	Tit. HAC.	IR	quartäres Ketoximsalz	quartäres Ketoximsalz	102
	-3-	Tit. HAC.	IR	quartäres Ketoximsalz	quartäres Ketoximsalz	102
	-4-	Tit. HAC.	IR	quartäres Ketoximsalz	quartäres Ketoximsalz	102
	-2-	--	--	----	----	---
	-3-	--	--	----	----	---
	-4-	UV	IR	----	quartäres Ketoximsalz	94
	-2-	UV	IR	----	quart. Ketoxims. u. 24	94
	-3-	--	--	----	----	---
	-4-	UV	IR	----	quartäres Ketoximsalz	94
	-2-	--	"in situ"	2-CPM*	2-CPM*	103- 106
	-3-	--	--	----	----	---
	-4-	--	IR	(E)-4-PAM	4-CPM*	101, 104, 112-114

* "CPM" = Cyanopyridinium-N-methyljodid

Wegen der extrem hohen Toxizität (vgl. 5.2.) der Organophosphatester 10^8-10^9) wurden schon frühzeitig acetylierte Pyridiniumoxime anstelle von Phosphatestern als Modellsubstanzen dargestellt, um aus deren Reaktionsverhalten bei unterschiedlichen pH-Werten in wäßrigen Lösungen auf den Zerfallsmechanismus dieser Verbindungen schließen zu können. Dabei waren die angewandten Analysemethoden ²⁴⁾¹¹⁰⁻¹¹¹⁾ jedoch z.T. unbefriedigend.

Schema 7:



Aus diesem Grunde sollten die Benzoessäureester der quartären Pyridiniumoxime 26 dargestellt werden und mit dem in der Literatur nur beschriebenen Reaktionsverhalten des (E)-4-PAM-Benzoessäureesters 26c⁹⁷⁾ verglichen werden.

Zur Synthese von 26 bot sich entweder die Methylierung der Benzoylester 25¹²⁰⁻¹²¹⁾ oder aber die Benzoylierung von (E)-16a, (E)-16b und (E)-19 an (s.S. 81, Schema 7).

-
- 105) B.E. Hackley jr., G.M. Steinberg, J.C. Lamb, Biochim.Biophys.Acta 89, 174 (1964)
- 106) J.H. Blanch, J.Chem.Soc. (B) 1969, 1172
- 107) G. Kühn, G.W. Fischer, K.H. Lohs, Arch.Pharm. (Weinheim) 300, 363 (1967)
- 108) R.D. O'Brien in "Toxic Phosphorus Esters" 102-201 Academic Press, New York 1960
- 109) R. Kitz, Acta Anaesthesid.Scand. 8, 197 (1964)
- 110) J.H. Blanch, J.Chem.Soc. (B) 1968, 167
- 111) J.H. Blanch, O.T. Onsager, J.Chem.Soc. 1965, 3729 und 3734
- 112) J.C. Lamb, G.M. Steinberg, S. Solomon, Biochemistry, 4, 2475 (1965)
- 113) G.M. Steinberg, S. Solomon, Biochemistry 5, 3142 (1966)
- 114) A.L. Green, G.L. Sainsbury, B. Saville, M. Stansfield, J.Chem.Soc. 1958, 1583
- 115) O. Rogne, Biochem.Pharmacol. 16, 1833 (1967)
- 116) N. Engelhard, B. Werth, Tetrahedron Lett. 10, 661 (1963)
- 117) A.L. Green, B. Saville, J.Chem.Soc. 1967, 3887
- 118) J.B. Wilson, Disc. Farad. Soc. 20, 119 (1955)
- 119) J.B. Wilson, Fed.Proc. 18, 752 (1959)
- 120) L. Gass, F.W. Bope, J.Pharm.Sci. 48, 186 (1959)
- 121) S.K. Gomer, E.J. Isaacson, R.G. Brown, J.N. Delgado, J.Pharm.Sci. 57, 1586 (1968)

4.1. Darstellung des O-Benzoesäureesters
 von (E)-16b

Das Ketoxim (E)-2b lieferte mit Benzoylchlorid in alkalischer, wäßriger Lösung den Benzoylester 25b, der glatt mit Methyljodid in siedendem Nitromethan zum quarten Benzoylesterjodid 26b umgesetzt werden konnte. Die Ausbeute betrug 86%. Bei diesem Reaktionsweg (Schema 7) blieb die (E)-Konfiguration erhalten.

Versuche, mit (Z)-2b über den gleichen Weg einen (Z)-konfigurierten Benzoylester darzustellen, führten nur zu einer Isomerisierung der Ausgangssubstanz, so daß lediglich geringe Mengen des (E)-Esters 25b isoliert werden konnten. Dies deckt sich mit den allgemeinen Auffassungen ¹⁾ der Literatur.

Ebenso führten Versuche, einen (Z)-Ester aus (Z)-2b und Benzoylchlorid über einen anderen Syntheseweg in wasserfreiem Ether und der Gegenwart von Triethylamin darzustellen, nur zu einer Isomerisierung von (Z)-2b und einem dc-feststellbaren zweiten Reaktionsprodukt, welches sich als der (E)-Ester 25b herausstellte.

4.2. Darstellung der O-Benzoesäureester
 von (E)-2-PAM und (E)-4-PAM

Die Benzoylester (E)-25a und (E)-25c konnten aus den Oximen (E)-2a bzw. (E)-19 durch Umsetzung mit Benzoylchlorid in Ether und der Gegenwart von Triethylamin erhalten werden. Ihre Quaternisierung zu den Benzoylesterfluor-

sulfonaten 26a und 26c gelang nur mit Fluorsulfonsäuremethylester, während die Reaktionsansätze mit Methyljodid zu komplexen Reaktionsgemischen führten, aus denen sich keine definierten Produkte isolieren ließen.

Die Darstellung der Jodide von 26a und 26c gelang jedoch durch Versetzen einer konzentrierten wäßrigen Lösung der entsprechenden Fluorsulfonate mit einer gesättigten Kaliumjodidlösung; hierbei fielen die relativ schwererlöslichen Jodide 26a und 26c in Form gelber Kristalle aus.

Die Versuche zur Darstellung eines (Z)-konfigurierten Esters von (Z)-2a über den gleichen Reaktionsweg lieferten lediglich den einheitlichen (E)-Ester 25a. Die Bildung des Nitrils "2-Cyanopyridin" (5) konnte dabei in den Ansätzen dünnschichtchromatographisch nicht nachgewiesen werden.

Auf die Benzoylierung des (Z)-2-PAM (=(Z)-16a) zwecks Darstellung von (Z)-26a wurde daraufhin verzichtet.

4.3. Stabilitätsuntersuchungen der Benzoessäureester (E)-26

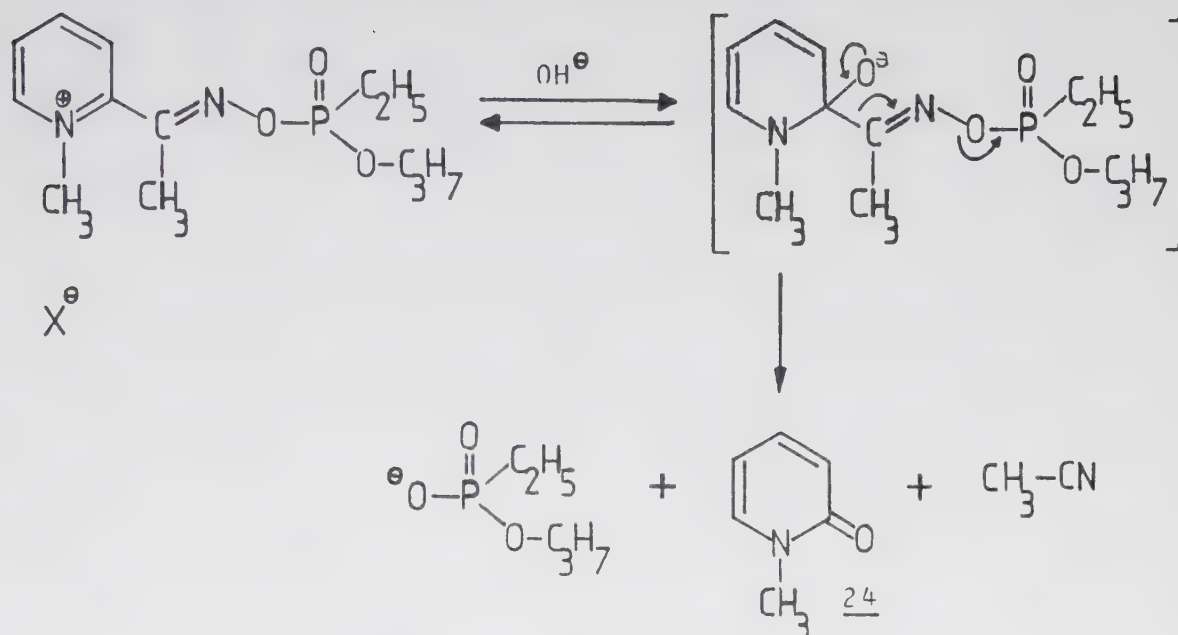
Die Stabilität der Benzoessäureester 26 wurde in wäßriger Lösung bei verschiedenen pH-Werten bei Raumtemperatur untersucht. Dabei lassen sich die drei Ester in jeweils eine eigene Gruppe unterscheiden:

a) der quartäre Ketoximester (E)-26b ist bis pH 10 stabil; bei pH-Werten >10 setzt eine meßbare Hydrolyse zu (E)-16b und Benzoessäure ein. Dabei nimmt die Hydrolysegeschwindigkeit mit steigendem pH zu.

Dies steht im Widerspruch zu verschiedenen Versuchen von BLANCH⁹⁴). Dort soll ein Phosphonylester zum 2-Pyridon 24, Acetonitril und dem entsprechenden Phosphonylanion

zerfallen (Schema 8):

Schema 8:

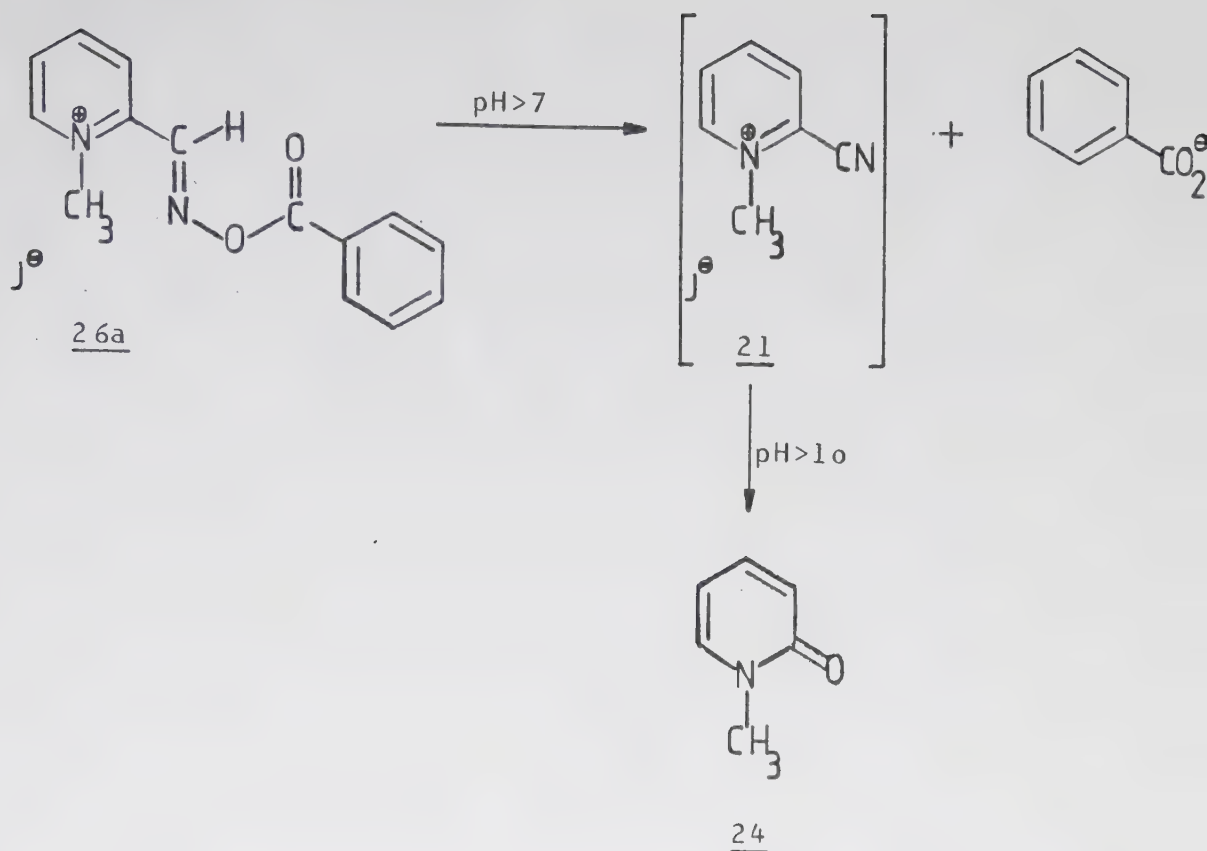


Es wird dabei auf eine Arbeit von ELLIN et al. ¹²²⁾ verwiesen, in der die Entstehung von N-Methyl-2-pyridon 24 aus dem Nitrilsalz 21 durch Einwirkung von Natronlauge beschrieben wird.

b) der quartäre (E)-2-PAM-Benzoesäureester (E)-26a ist demgegenüber nur bei pH-Werten <7,0 stabil. Ab pH 7,4 kommt es zu einer schnellen und vollständigen Zersetzung, die ohne Hydrolyse unter anschließender β -cis-Eliminierung zum Nitrilsalz 21 und Benzoesäure führt (Schema 9). Bei pH-Werten >10 läßt sich N-Methyl-2-pyridon 24 als Folgeprodukt dc nachweisen und als Perchlorat auch isolieren.

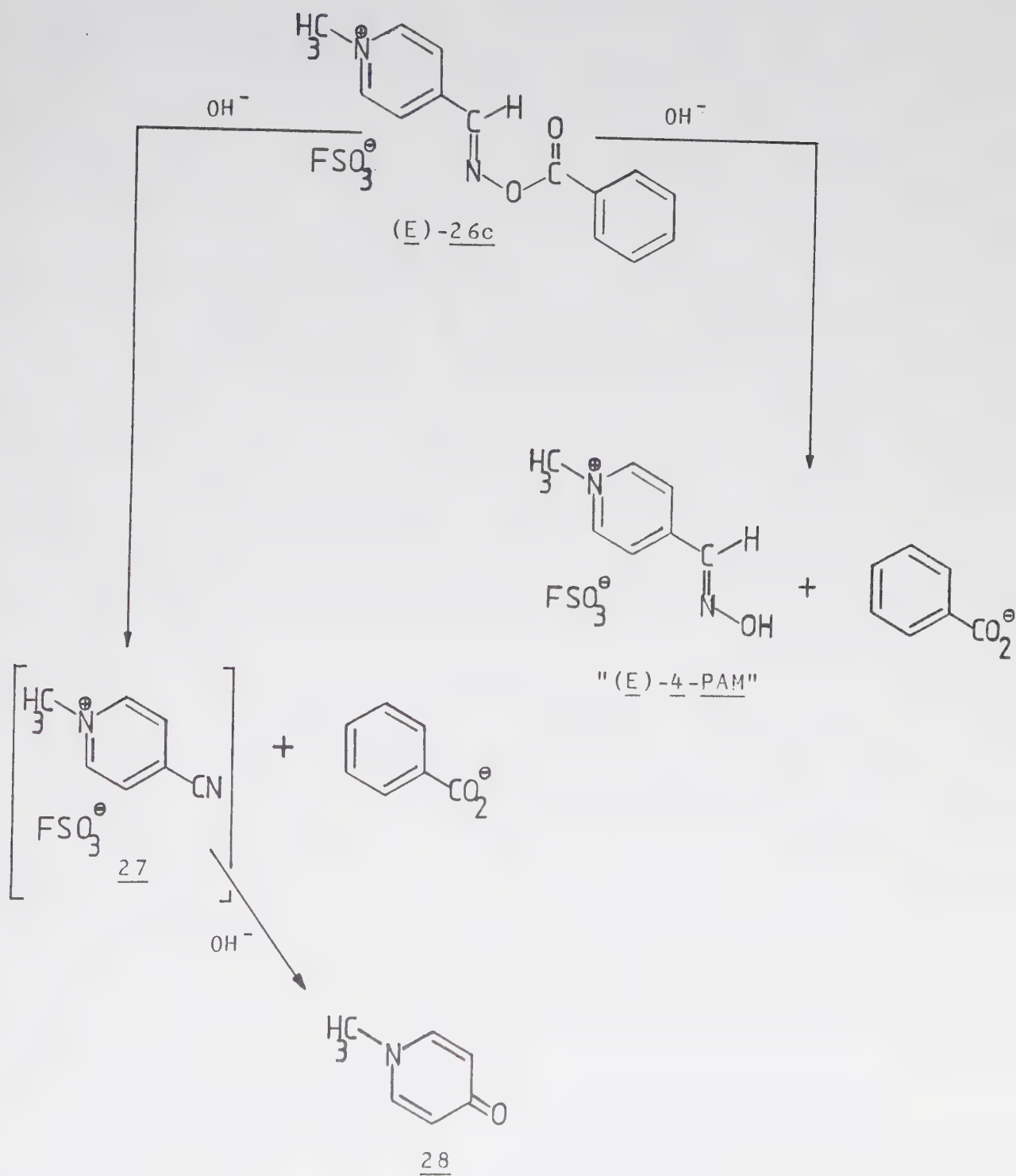
122) R.J. Ellin, D.E. Easterday, P. Zvirblis, A.A. Kondritzer, J.Pharm.Sci. 55, 1263 (1968)

Schema 9:



c) der quartäre (E)-4-PAM-Benzoesäureester (E)-26c ist ebenfalls bei pH-Werten $< 7,0$ stabil. Im alkalischen Bereich kommt es jedoch nur zu einem langsamen Zerfall, wobei zwei Wege sich die Waage halten, deren prozentuales Verhältnis unabhängig vom pH-Wert stets gleichbleibt: die Hydrolyse und die Eliminierung stehen ungefähr in einem 1:1 Verhältnis zueinander. Dieser Befund steht im Gegensatz zu den Angaben von HAGEDORN et al. ⁹⁷⁾, wonach der nicht näher beschriebene O-Benzoesäureester des (E)-4-PAM ab pH 10 in das entsprechende quartäre Oxim und Benzoesäure, bei pH 7,8 jedoch überwiegend in das entsprechende Nitrilsalz 27 zerfallen soll (Schema 10):

Schema 10:



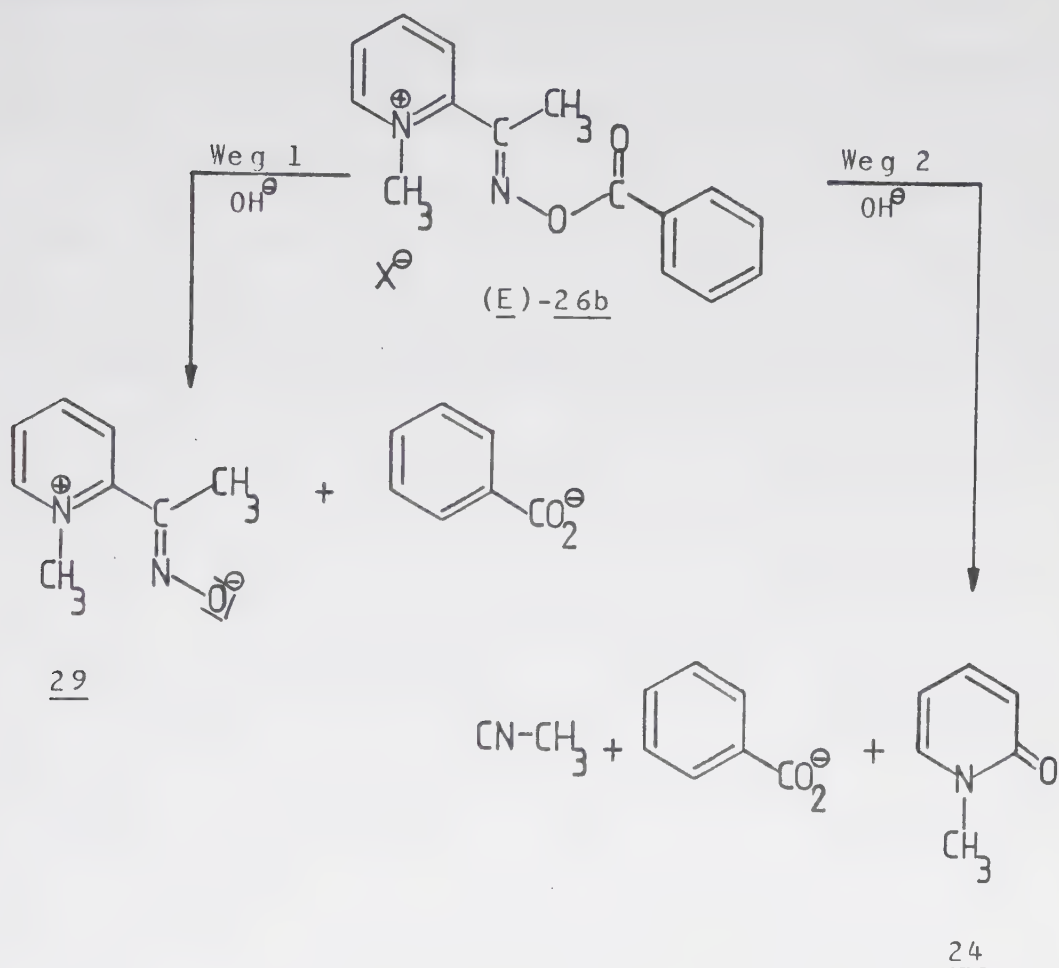
(Verhältnis zueinander ca. 1:1)

4.4. Analytik der Zerfallsprodukte

4.4.1. Analytik der Zerfallsprodukte von (E)-26b

Für die basenkatalysierte Zersetzung des Benzoyl-esters (E)-26b bei pH 7,4, 9,0 und 10,0 kamen zwei mögliche Reaktionswege in Betracht (Schema 11):

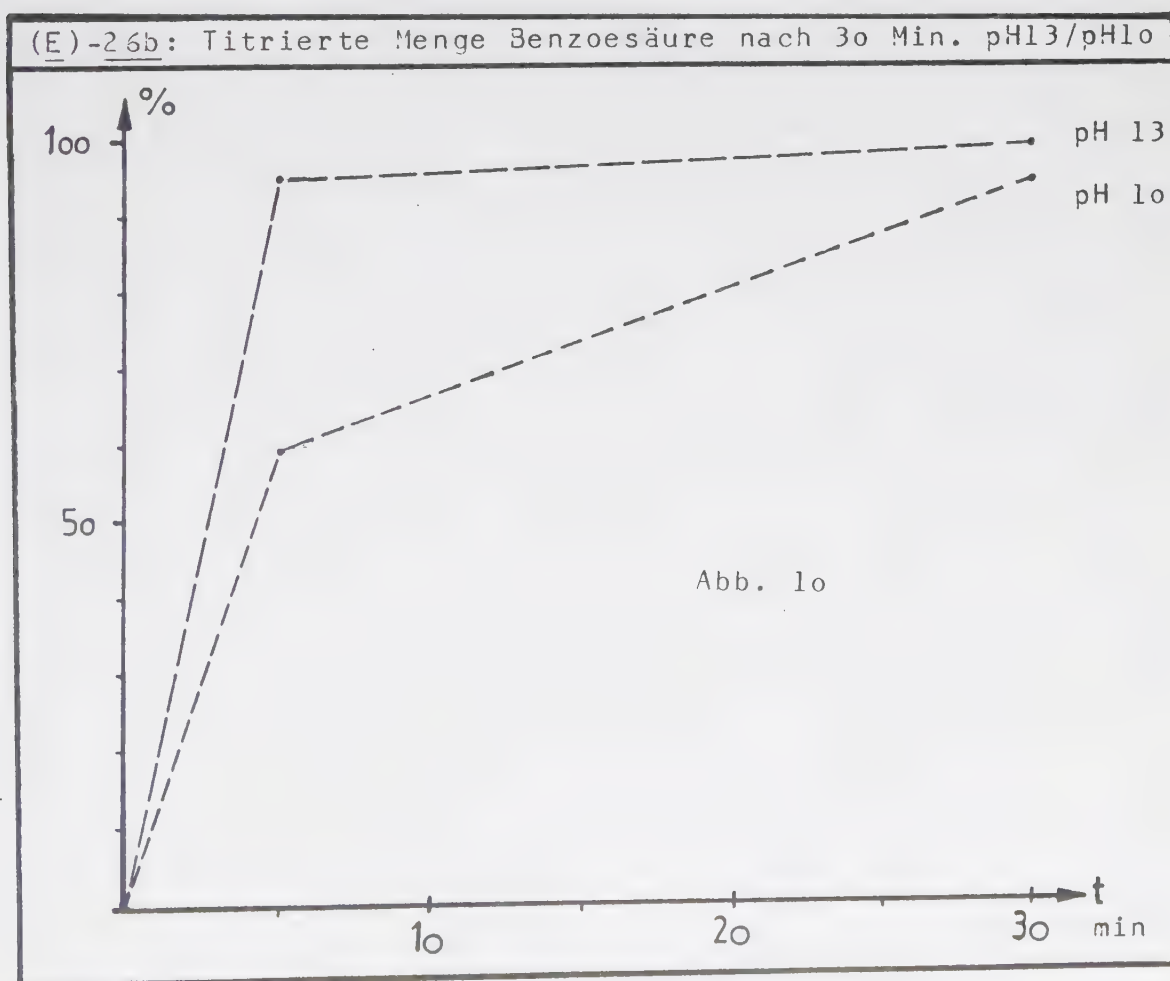
Schema 11:



Diese müßten zu zwei verschiedenen Zerfallsprodukten führen: die Hydrolyse über den Weg 1 sollte das Pyridiniumoximat 29 liefern, während bei der Eliminierung ⁹⁴⁾ über den Weg 2 das Pyridon 24 neben Acetonitril zu erwarten war. Die über beide Wege gebildete Menge an Benzoat sollte dann dem Ausmaß der Gesamtzersetzung entsprechen.

Zunächst konnte ermittelt werden, daß der Ketoxim-
ester 26b im Bereich von pH 7,4 bis 10,0 einer Eliminie-
rung über den Weg 2 nicht unterliegt, da in keinem Fall
das Pyridon 24 noch Acetonitril nachzuweisen waren.

Die einsetzende Hydrolyse nach Weg 1 konnte hingegen
leicht mit Hilfe des für das Betain 29 charakteristischen
UV-Absorptionsmaximums bei ca. 320 nm verfolgt werden (Abb.
11 u. 12). Die quantitative Bestimmung des freigesetzten
Benzoats erfolgte durch Titration der nach dem Ansäuern
extrahierten Benzoesäure mit 0,1 N NaOH im Lösungsmittel
Ethanol nach der Vorschrift des DAB 7 (Abb. 10).



Aus Abb. 10 wird sichtbar, daß die Hydrolyse ab pH 10 einge-
setzt hat (5 Min.) und nach 30 Min. weitgehend abgeschlossen
ist.

Abb. 11

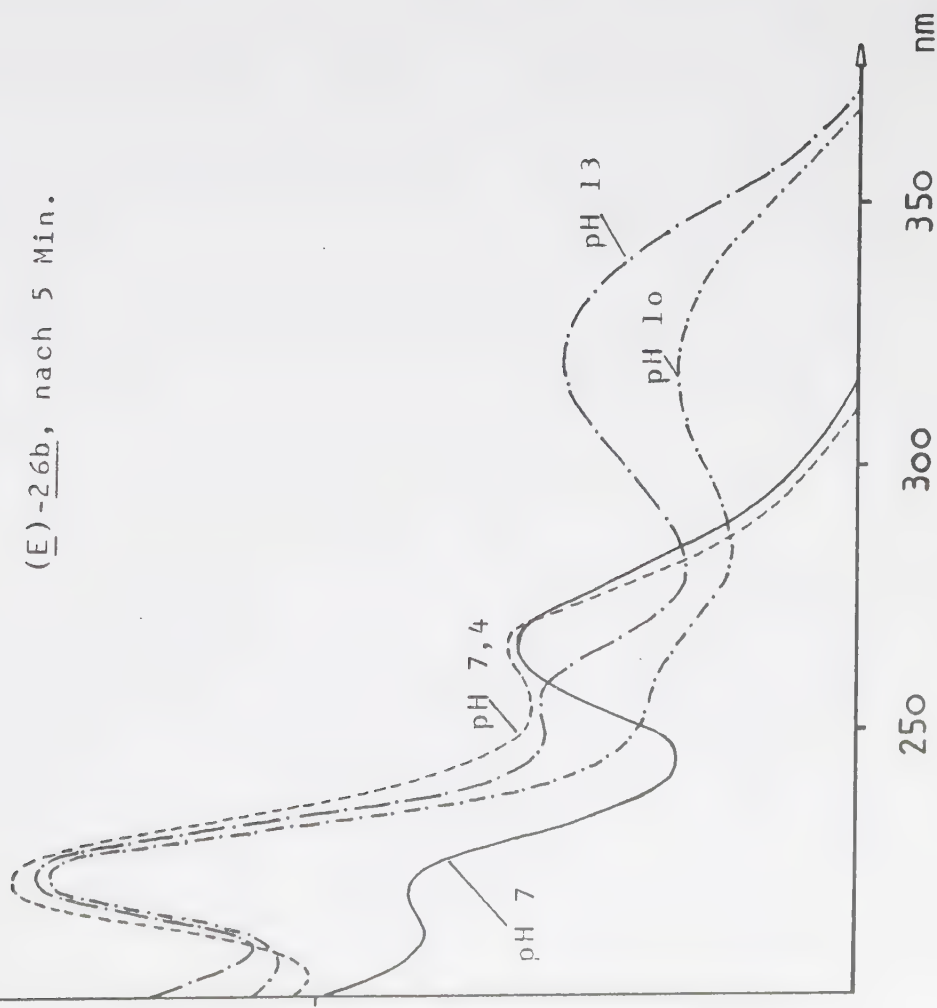
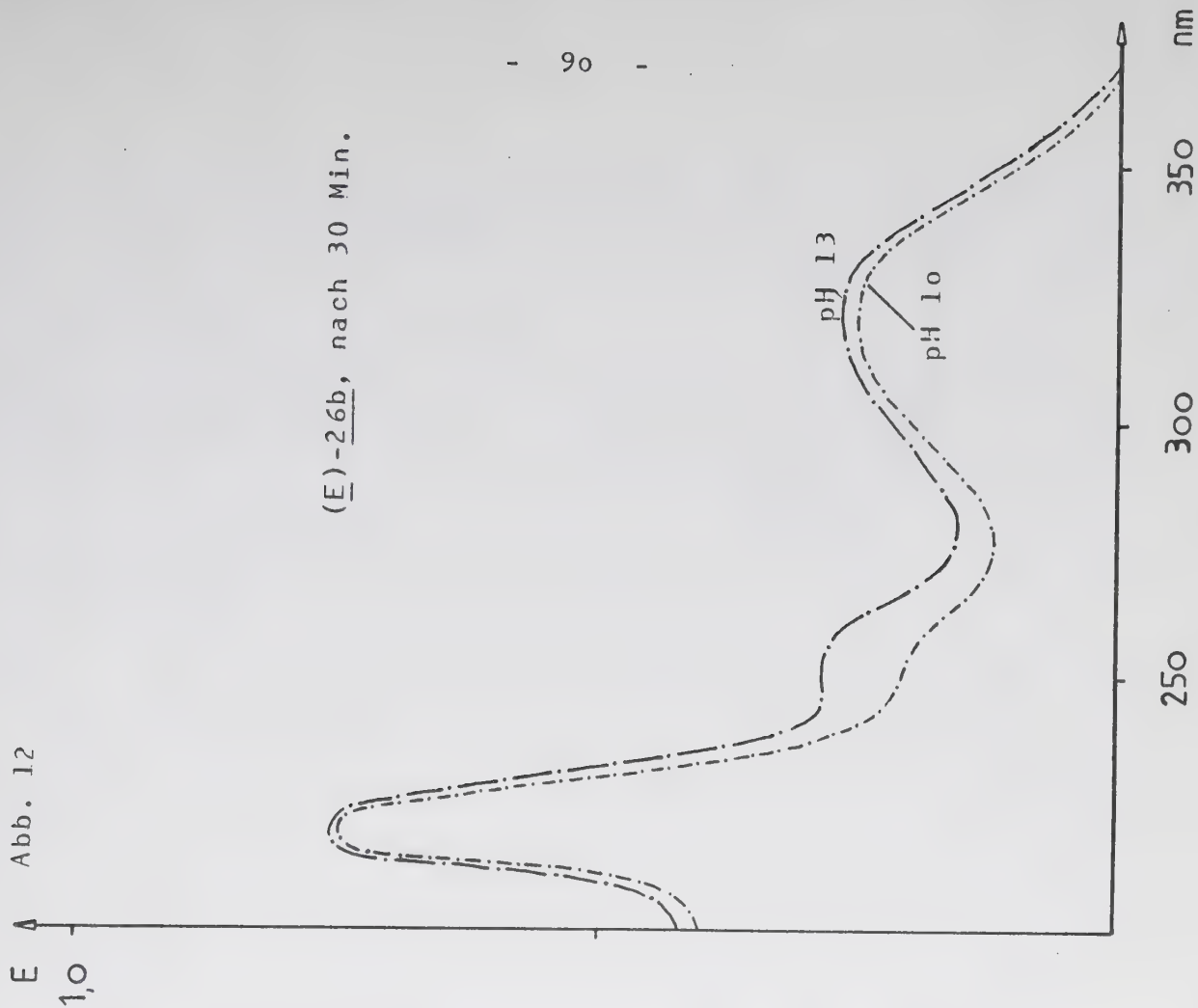


Abb. 12

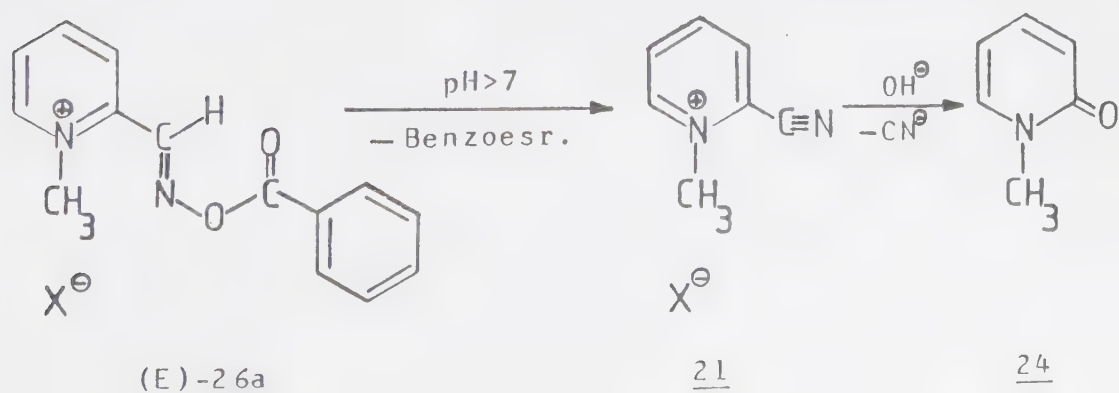


4.4.2. Analytik der Zerfallsprodukte von (E)-26a und (E)-26c

Während beim Ketoxim-Benzoyl ester (E)-26b unter den angewandten Bedingungen in keinen Fall eine Eliminierung nach Weg 2 eintrat, war dies bei den Aldoxim-Benzoylestern 26a und 26c deutlich zu beobachten, wenn auch in unterschiedlichem Ausmaß.

Der 2-Aldoxim-Benzoyl ester 26a ist dabei so labil, daß die Aufnahme eines NMR-Spektrums der völlig intakten Substanz in DMSO- d_6 nicht gelingt (Abb. 13). Die Eliminierung setzt hier sofort ein und ist nach 30 Min. abgeschlossen. Dagegen erweist sich (E)-26a in Acetonitril unter den Bedingungen der NMR-Messung als stabil (Abb. 14). Nach Zusatz von Na-hydrogencarbonat in D_2O setzt jedoch sofort Eliminierung ein, die nach 10 Minuten abgeschlossen ist.

Auch mit Hilfe der in Wasser aufgenommenen UV-Spektren läßt sich erkennen, daß (E)-26a bei nur geringfügig über pH 7 liegenden Werten (pH 7,4) spontan unter Eliminierung von Benzoat in das Nitrilsalz 21 zerfällt, aus dem in Abhängigkeit von der OH^- -Konzentration das Pyridon 24 als Folgeprodukt entsteht (Abb. 15 u. 16):



Lösungsmittel: DMSO-d₆; Temp.: konst. 30°; innerer Standard: TMS; D₂O-Austausch: -*-

Abb. 13

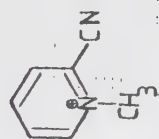
Messung nach D₂O-Zusatz nach 5 Min.:

α -CH=N

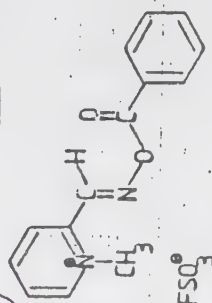
(Rest von intaktem
(E)-26a)

-*-: D₂O

"CPN"



21

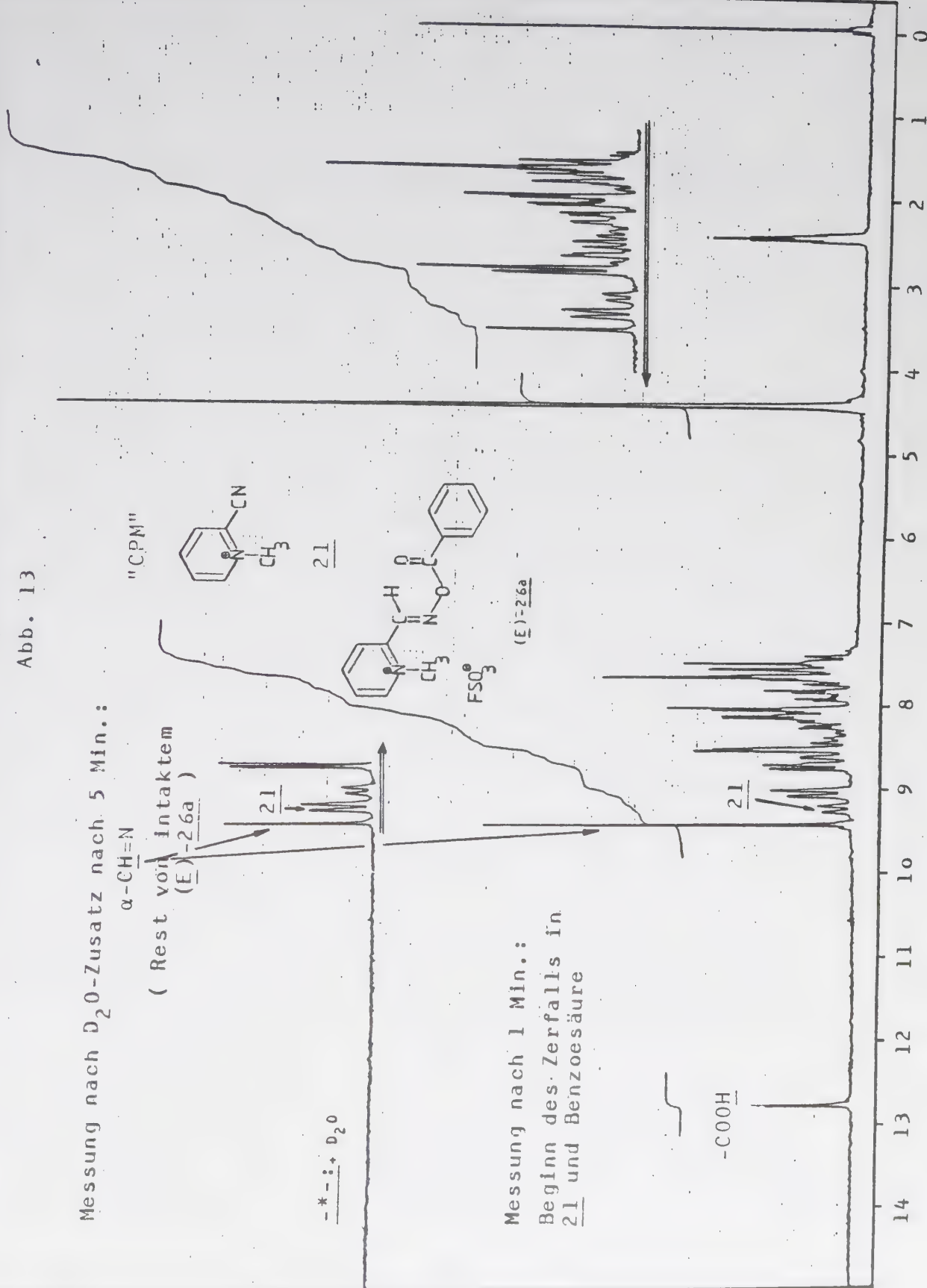


(E)-26a

Messung nach 1 Min.:

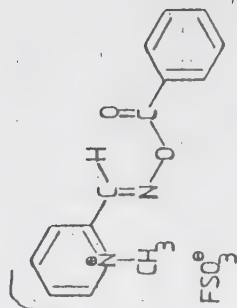
Beginn des Zerfalls in
21 und Benzoesäure

-COOH



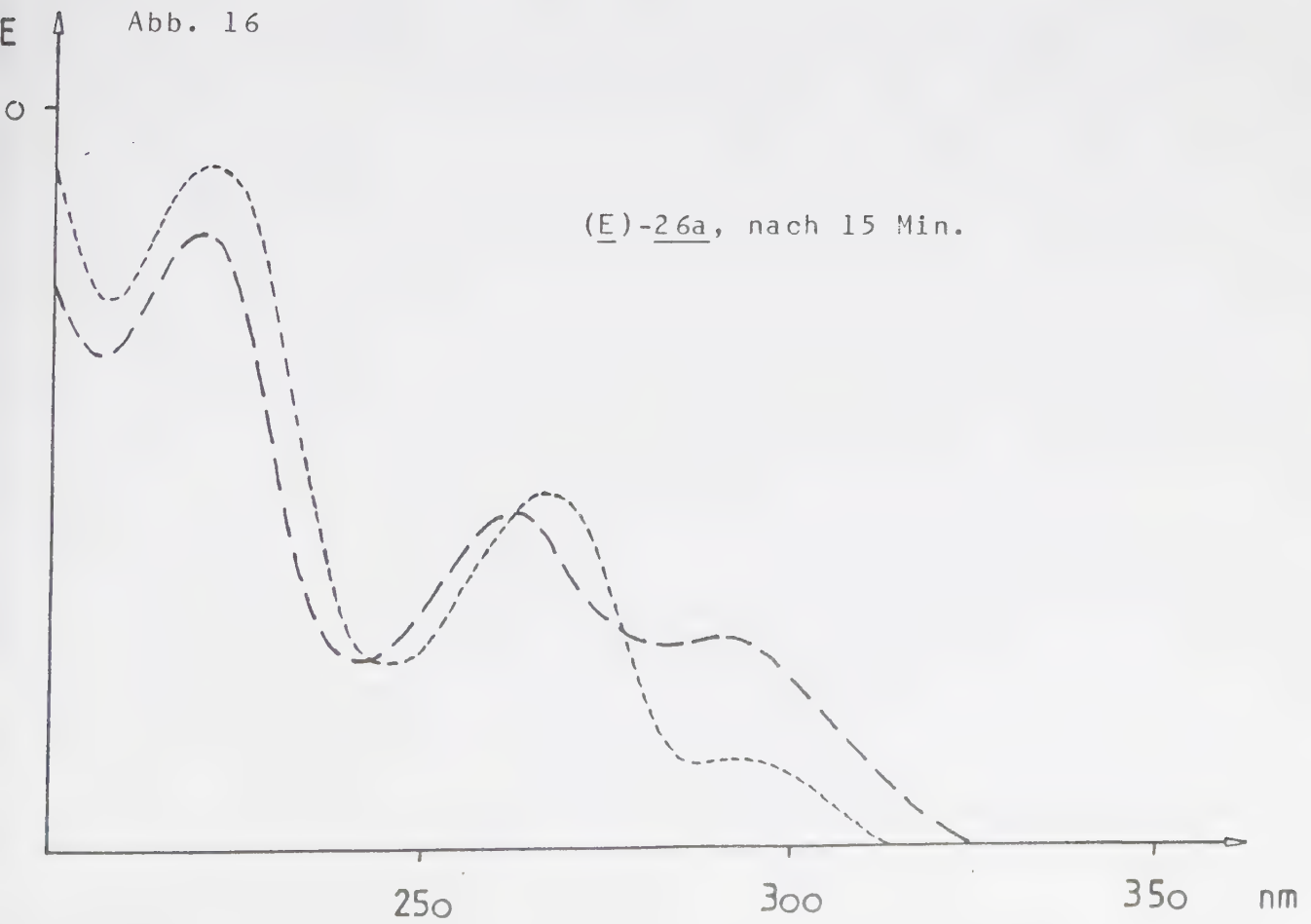
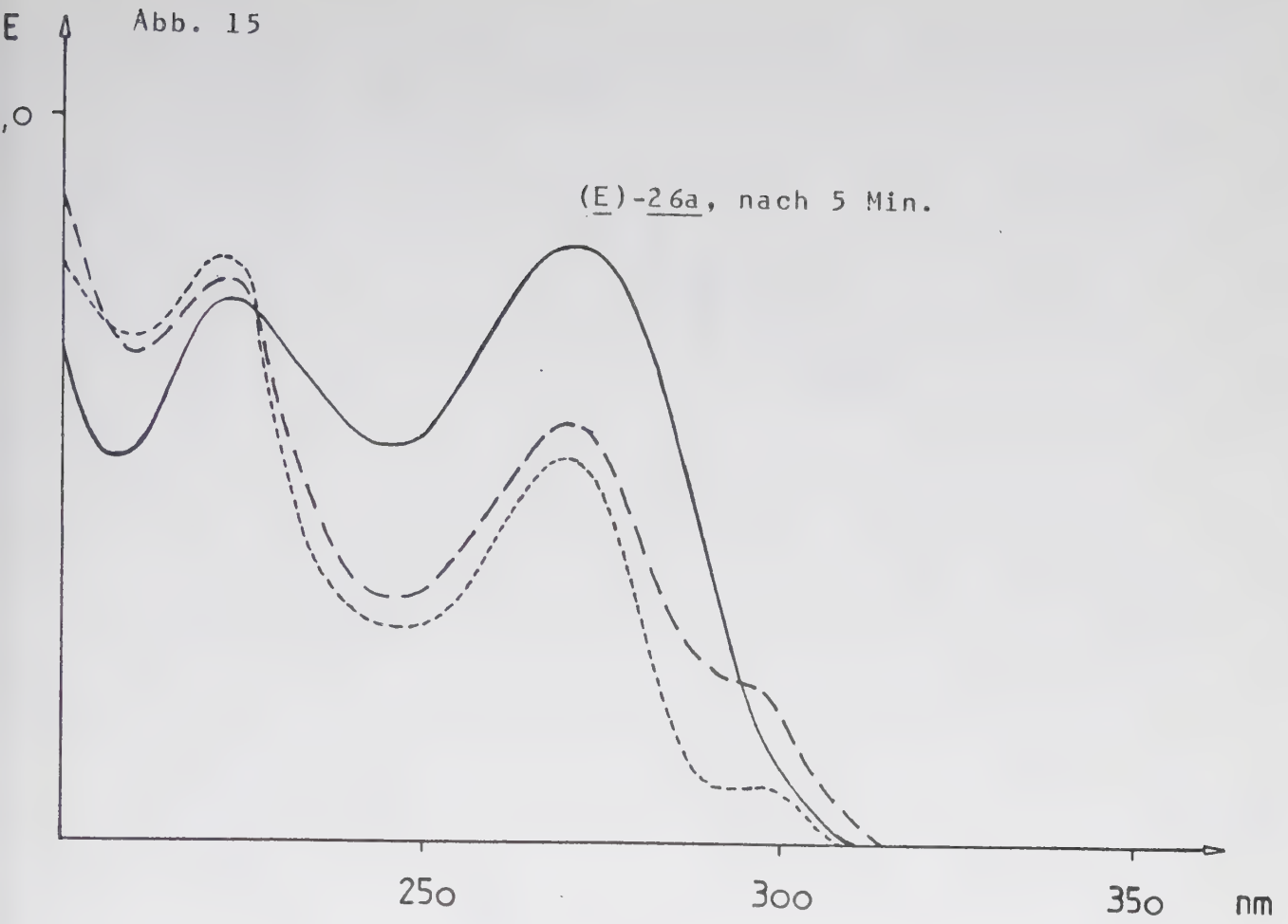
Lösungsmittel: Acetonitril; Temp.: konst. 30⁰; innerer Standard: TMS

Abb. 14

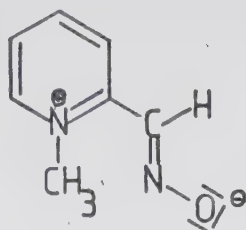


(E) = 26a

ppm (δ)



Eine Hydrolyse läßt sich ausschließen, da sich in keinem Fall das Absorptionsmaximum des Pyridiniumoximats 30 bei 332 nm ausbildet.



30

Deutliche Unterschiede zu diesem Reaktionsverhalten zeigt der entsprechende 4-Aldoxim-Benzoyl ester (E)-26c (Schema 12). Er erweist sich in DMSO-d₆ als stabil und zersetzt sich bei Raumtemperatur in alkalischen Lösungen verschiedener pH-Abstufungen wesentlich langsamer (Tabelle 20) als (E)-26a.

Schema 12:

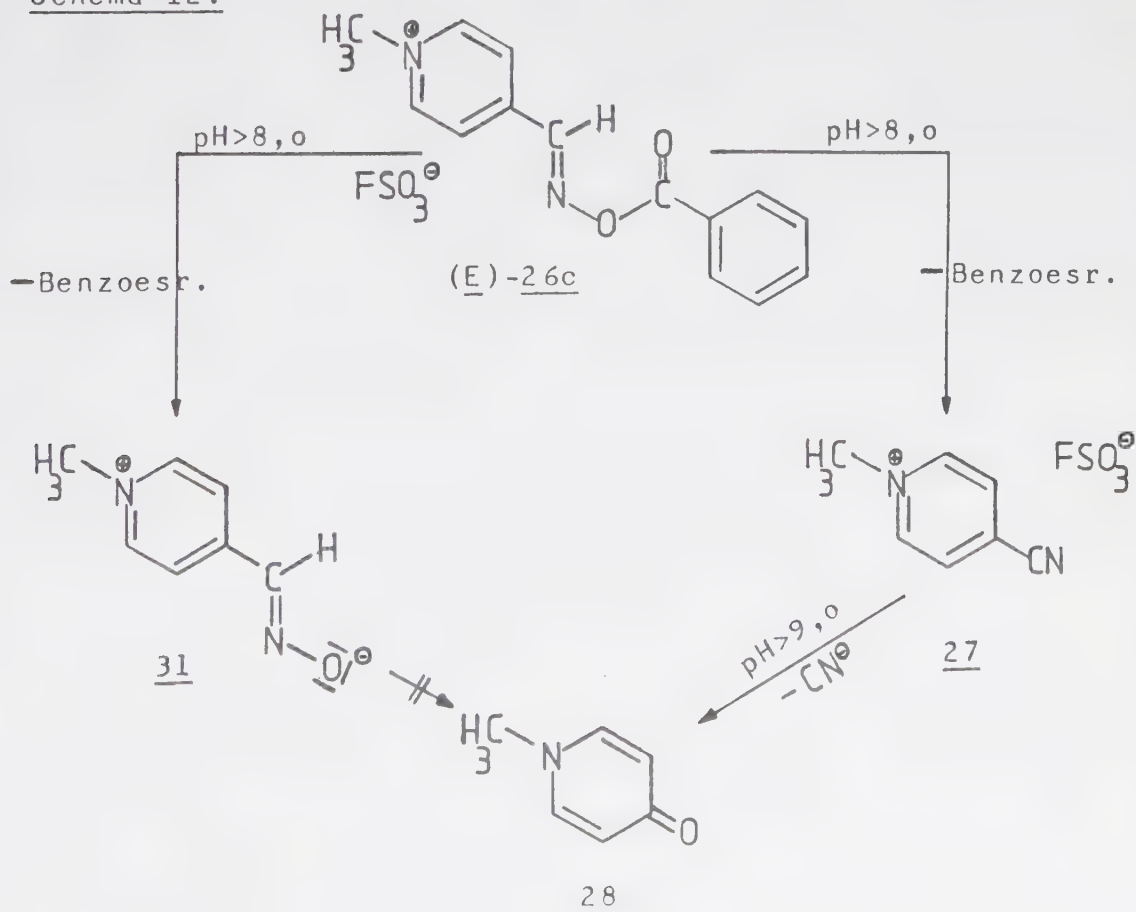


Tabelle 2o

pH	Oximat 3o' I	Oximat 4 ^h II	Oximat 4 ^h +NaOH III	Benzoersr. 4 ^h I	Benzoersr. 4 ^h +NaOH II	Pyridon 4 ^h +NaOH	Prozent Benzoersr. I + " II	Prozent Oximat III + Pyridon	Prozent Benzoersr. I - Oximat II
7,40				E=0,160 ± 0,1156mg ± 46,2 % =====	Verbrauch: 5,62 ml ± 96,4 % =====	E=0,230 ± 0,1467mg ± 45,9 % =====	46,1%+ 45,9% 96,4% =====		
8,00	E=0,047* ± 0,074mg ± 13,6% =====	E=0,055 ± 0,0397mg ± 15,9 % =====	E=0,140 ± 0,1012mg ± 40,5 % =====	Verbrauch: 1,88 ml ± 22,95 mg ± 32,3 % =====	Verbrauch: 3,74 ml ± 45,70mg ± 64,2 % =====	E=0,245 ± 0,1563mg ± 48,9% =====	32,3%+ +64,2%= 96,5% =====	30,5% +48,9% 89,4% =====	32,3% -15,9% 16,4% =====
9,00	E=0,072 ± 0,0520mg ± 20,8% =====	E=0,102 ± 0,073mg ± 29,5% =====	E=0,170 ± 0,1228mg ± 49,1 % =====	Verbrauch: 3,58ml ± 43,70 mg ± 61,4 % =====	Verbrauch: 2,14 ml ± 26,195mg ± 36,8% =====	E=0,252 ± 0,1608mg ± 50,2% =====	49,1% +50,2% 99,3% =====	61,4% +36,8% 98,2% =====	61,4% -29,5% 31,9% =====
13,0	E=0,170 ± 0,1228mg ± 49,1% =====			Verbrauch: 5,80 ml ± 70,80mg ± 98,6% =====	Verbrauch: 5,62 ml ± 96,4 % =====	E=0,265 ± 0,169 mg ± 52,8% =====	49,1% +52,8% 101,9% =====	98,6% 49,5% =====	98,6% -49,1% 49,5% =====

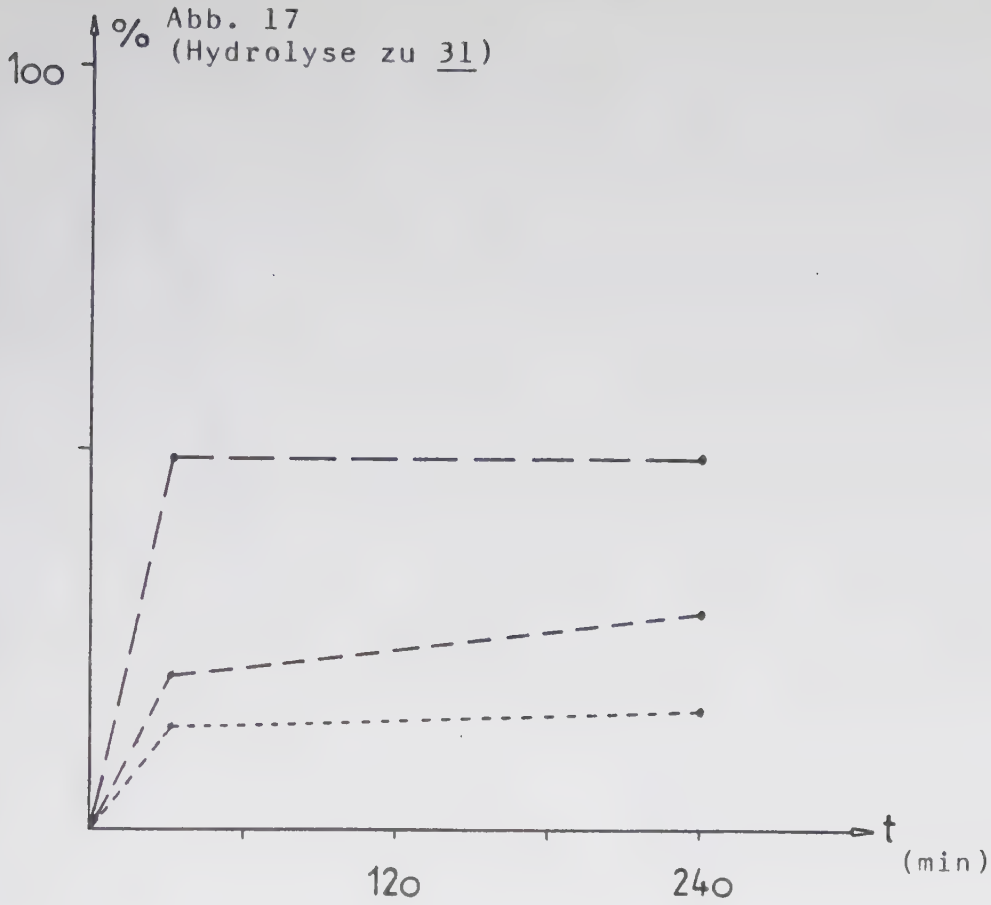
Titrationsergebnisse und Extinktionswerte* zum Zerfall von (E)-26c in wäßrigen Lösungen mit unterschiedlichen pH-Werten.

*) (0,025 mg entsprechen einer Extinktion von E=0,345 der Eichgeraden für (F)-26c)

Dabei läßt sich das Hydrolyseprodukt 31 an Hand seines UV-Absorptionsmaximums bei 334 nm ⁹⁷⁾ nachweisen (Abb. 17 u. 18). Das als Folgeprodukt des durch Eliminierung aus (E)-26c entstandene Nitril 27 geht ab pH >10 quantitativ in das Pyridon 28 über. Dieses kann nach Zusatz von 5proz. Natronlauge zu den Pufferlösungen mit pH 8,00 bzw. pH 9,00 und anschließender Extraktion mittels Chloroform dc nachgewiesen werden. Die quantitative Bestimmung erfolgt durch UV-Spektroskopie (siehe Abb. 19, 20 und 21).

Mit Hilfe der quantitativen Bestimmung der über beide Wege gebildeten Benzoesäure und durch Titration derselben (nach vorausgegangener Etherextraktion) war es möglich, das Gesamtausmaß der Zersetzung von (E)-26c zu ermitteln. Dabei wurde festgestellt, daß die Geschwindigkeit der Zersetzung mit steigendem pH zunimmt, wobei das Verhältnis von 1:1 zwischen Hydrolyse und Eliminierung stets gleich blieb.

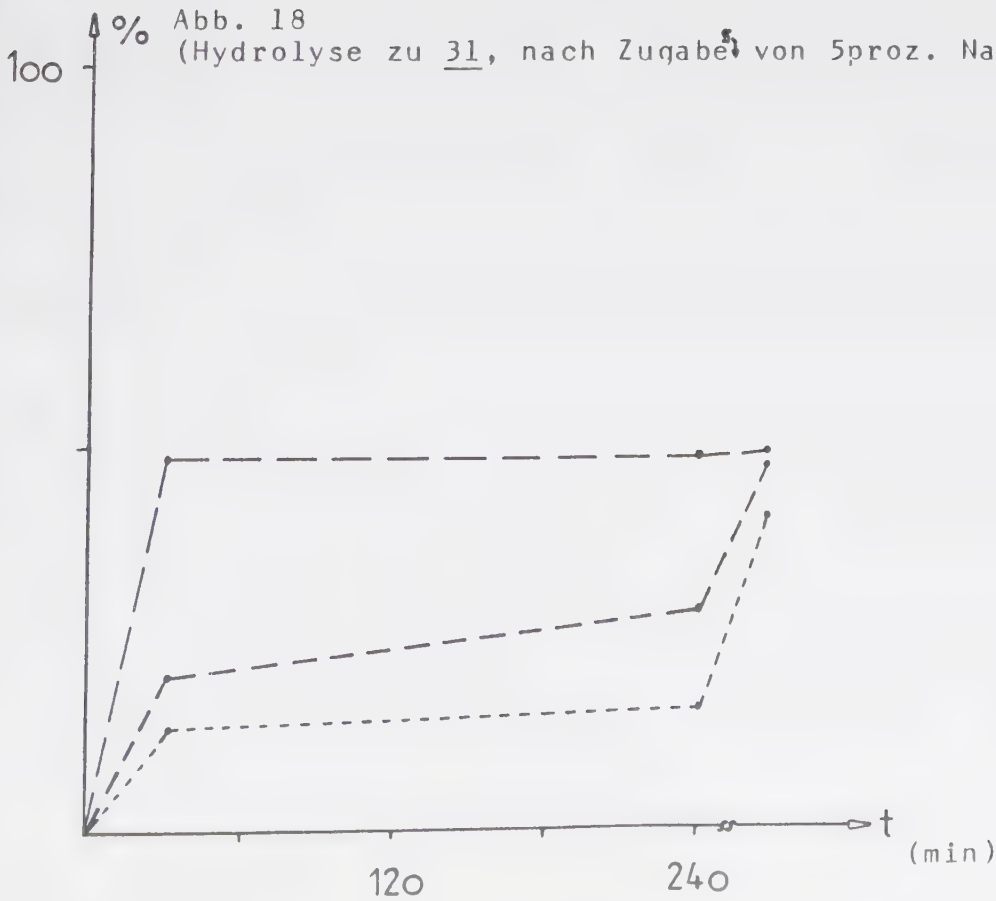
Abb. 17
(Hydrolyse zu 31)



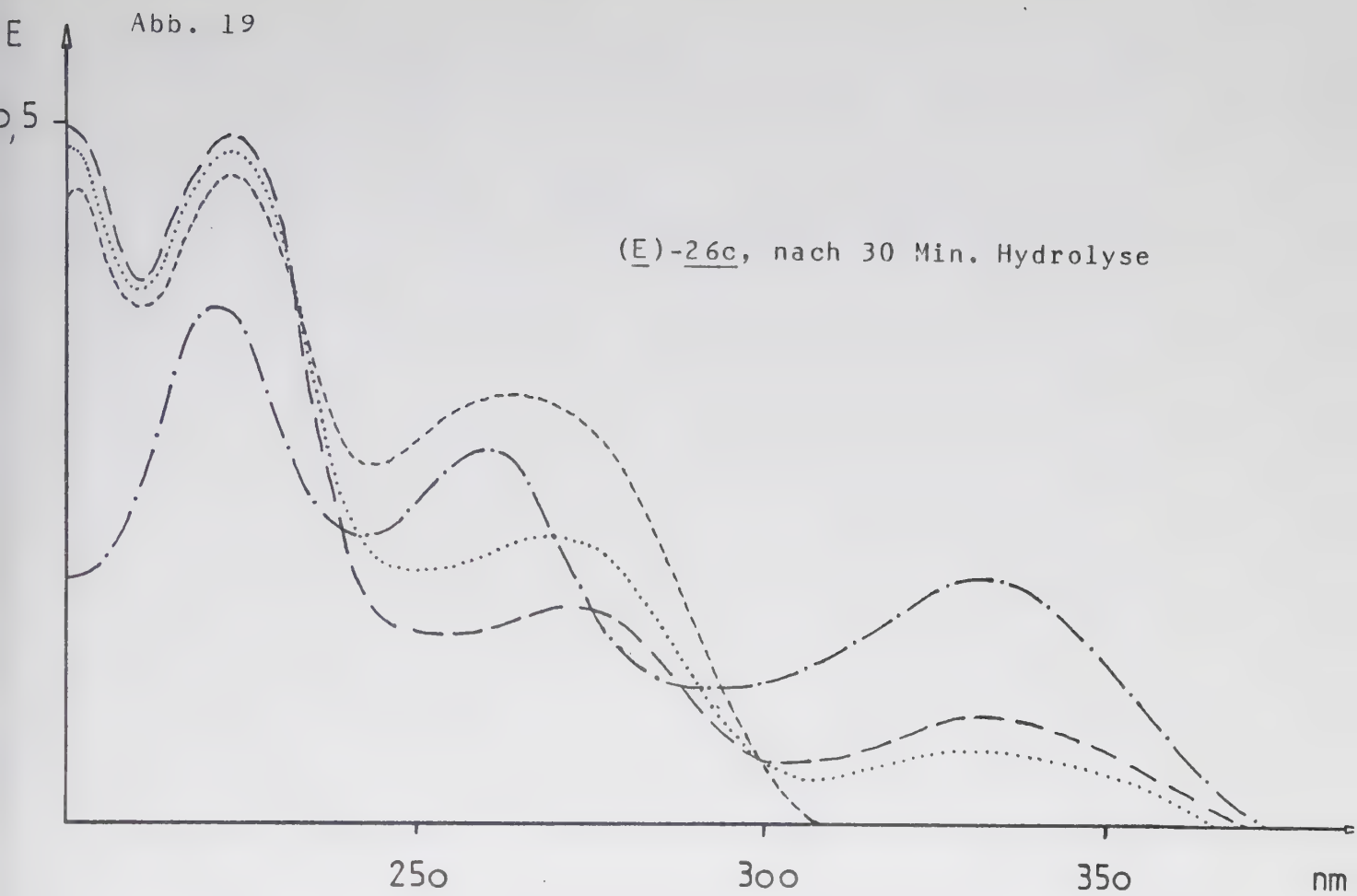
pH 8,00

pH 9,00

Abb. 18
(Hydrolyse zu 31, nach Zugabe von 5proz. NaOH)

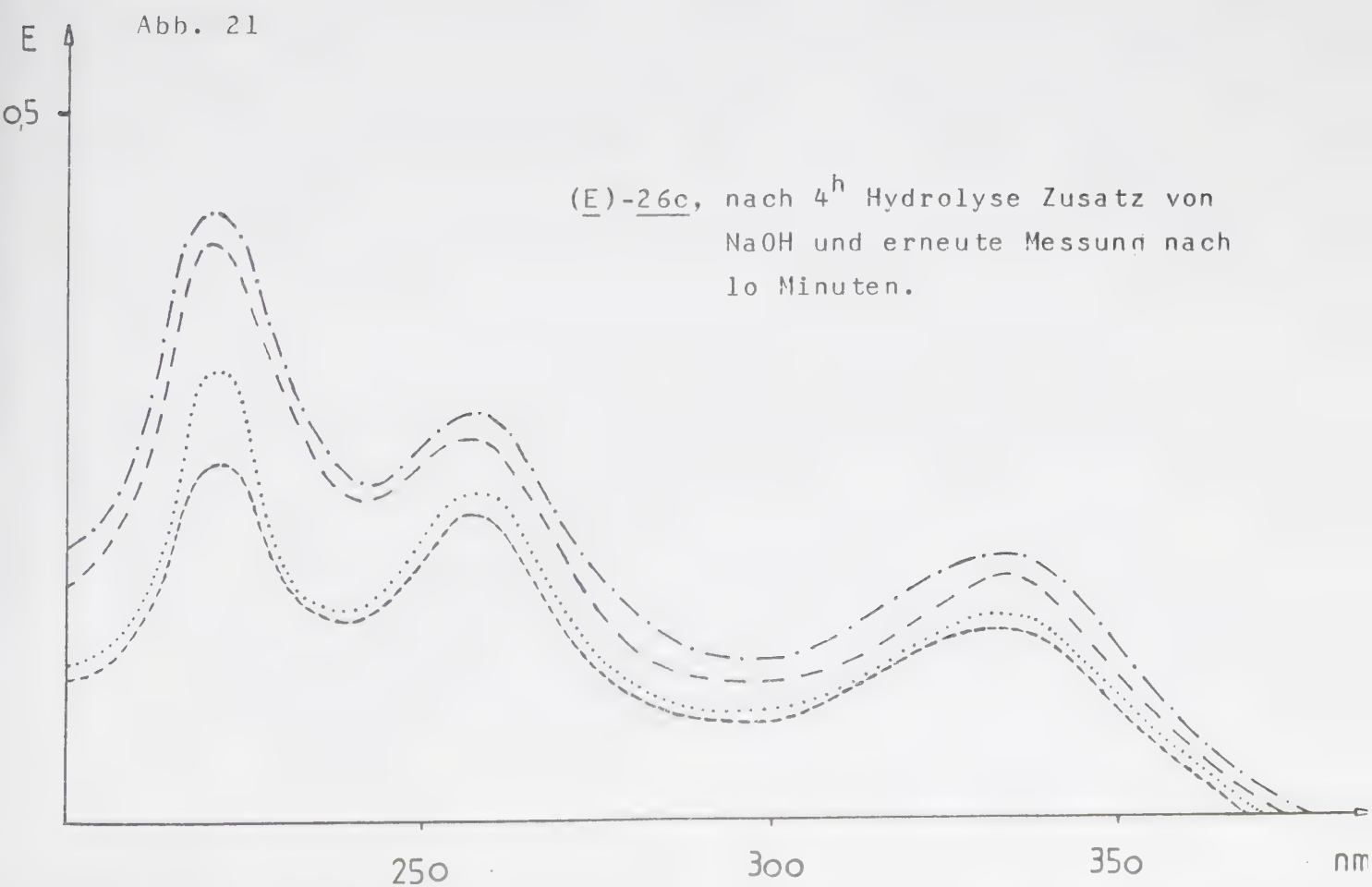
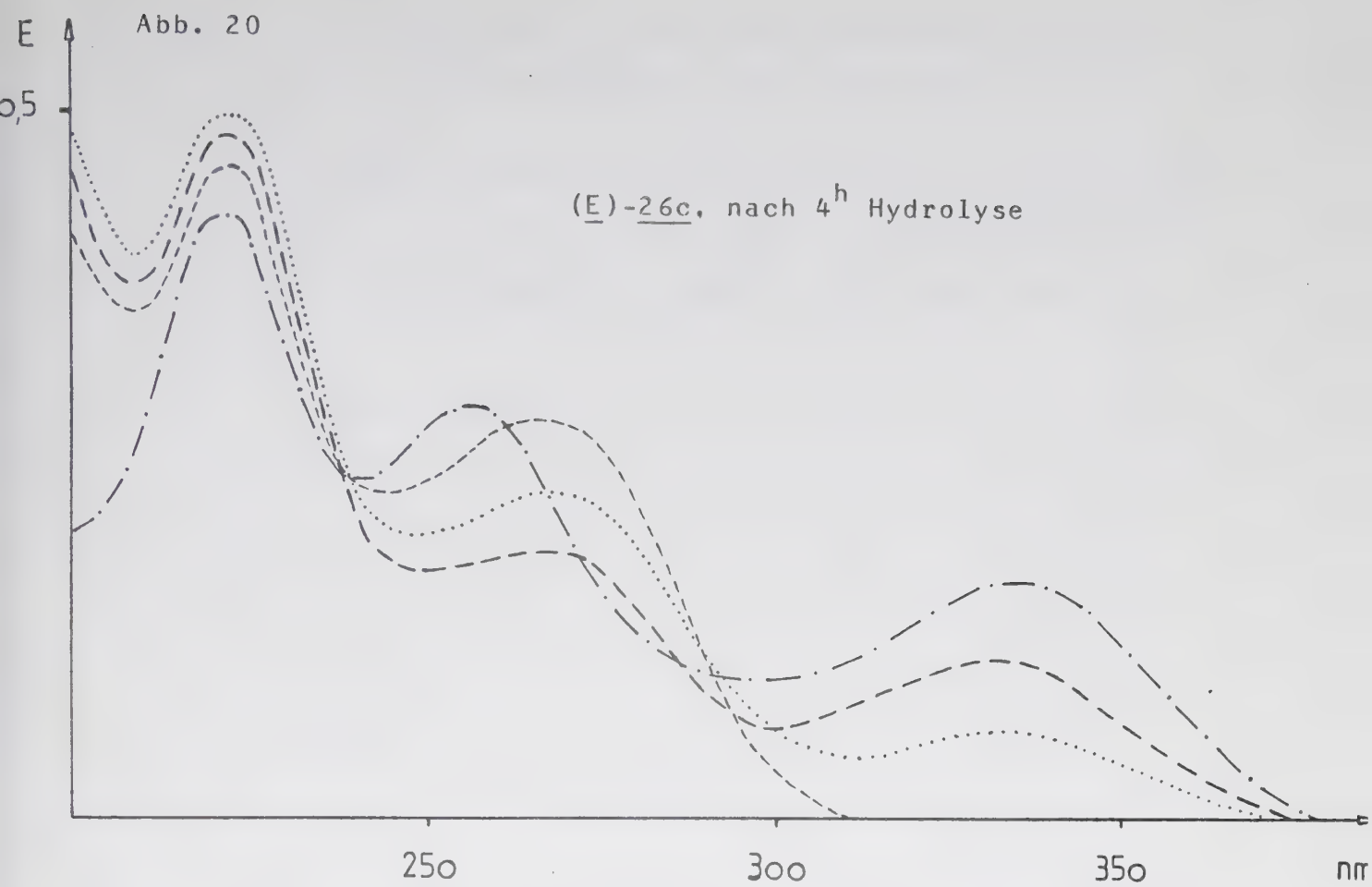


pH 13,0



Legende zu den Abb. 11, 12, 15, 16, 19, 20, 21:

pH 7,40	=	-----
pH 8,00	=	
pH 9,00	=	-----
pH 10,0	=	-----
pH 13,0	=	-----
Aqua bidest	=	-----



5. Giftungs- und Reaktivierungsreaktion an der
Acetylcholinester-Hydrolase (AChE).

Das Enzym Acetylcholinester-Hydrolase (in der Systematik ¹²³⁾ Acetylcholin-Acetylhydrolase genannt, System-Nr. 3.1.17.) ist maßgeblich an der nervösen Reizleitung beteiligt.

Gewisse Phosphor- und Phosphonsäureester (z.B. die als Insektizide eingesetzten Organophosphate) verursachen eine irreversible Hemmung der AChE und wirken giftig ¹²⁴⁾. Diese Giftwirkung läßt sich nur durch sog. AChE-Reaktivatoren kausaltherapeutisch beheben ¹²⁵⁾.

5.1. AChE-Rezeptortheorie

Der ACh-Rezeptor liegt dem Enzym AChE unmittelbar benachbart. Beide werden durch die gleiche Substanz (ACh) erregt. Daher wird von KRUPKA ¹²⁶⁻¹²⁷⁾ vermutet, daß der zur Anlagerung dienende Bereich bei beiden Proteinen sehr ähnlich strukturiert sein muß. In einigen Eigenschaften unterscheiden sich jedoch die beiden Proteine deutlich voneinander:

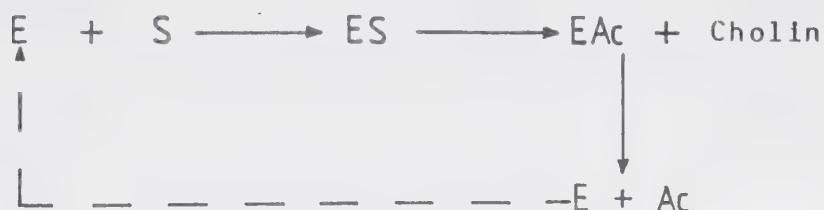
123) Comprehensive Biochemistry, Edit. M. Florkin, E.H. Stolz, Vol. 13, Rep. of the Commission on Enzymes of the Int. Union of Biochemistry., Amsterdam-London-New York, Elsevier Publishing Comp., 1964

124) W.N. Aldrige, E. Reiner, Enzyme Inhibitors as Substrates, North Holland Publishing Comp., Amsterdam-London, 1972

125) G.B. Koelle, Handbuch der experim. Pharmakologie, Bd. 15, Berlin, 1963.

Der ACh-Rezeptor kann Acetylcholin nicht spalten und kann auch nicht durch DFP (Di-isopropyl-fluorphosphat) in seiner Aktionsfähigkeit beeinträchtigt werden, während das Enzym AChE spezifisch durch DFP blockiert werden kann und nur es Acetylcholin zu spalten vermag.

Der Aufbau des Wirkungszentrums der AChE sowie dessen Kinetik der Enzymwirkung und -hemmung ist besonders von NACHMANSOHN ¹²⁸⁻¹²⁹⁾ sehr ausführlich untersucht worden. Danach bilden das Enzym AChE ("E") und das Substrat ACh ("S") einen Komplex ("ES"), der im vorliegenden Fall Cholin abspaltet und in das acetylierte Enzym ("EAc") übergeht. In einem letzten Schritt erfolgt die Hydrolyse von "EAc" unter Rückbildung des Enzyms und Acetats:



Schematische Darstellung der AChE-Funktion.

-
- 126) R.M. Krupka, Can.J.Biochem.Physiol. 42, 677 (1964)
127) R.M. Krupka, Biochem. 5, 1983 u. 1988 (1966)
128) D. Nachmansohn, Chemical and Molekular Basis of Nerve Activity, New-York 1959
129) D. Nachmansohn, T.R. Podleski, Proc.Nat.Acad.Sci. USA 56, 1034 (1966)
130) D.E. Koshland, Science 142, 1533 (1963)

Während nach der älteren Matrizentheorie ¹²⁸⁾ ein starrer Bau des Wirkungszentrums von AChE angenommen wurde (dem das Substrat angepaßt sein mußte), wird heute seit den Arbeiten von KOSHLAND ¹³⁰⁾ ein dynamischer Mechanismus angenommen, in dem das Substrat selbst eine Konformationsänderung der Rezeptorproteinstruktur im Wirkungszentrum zu einer katalytisch wirksamen Form induziert.

Das aktive (wirksame) Zentrum der AChE weist zwei Wirkstellen auf. Das sog. anionische Zentrum dient zur Fixierung des kationischen Substratteiles (durch Coulomb'sche Kräfte), das sog. esteratische Zentrum inszeniert die eigentliche Hydrolyse des Substrates ¹²⁸⁻¹²⁹⁾.

Über die Einzelheiten dieser beiden Zentren wurde bisher schon vielfach berichtet ¹³¹⁻¹³³⁾. Für das "Anheftungszentrum" (anionische Zentrum) wird angenommen ¹³¹⁾, daß es aus der Carboxylgruppe einer Aminodicarbonsäure besteht. Dabei handelt es sich entweder um Glutaminsäure ¹³¹⁾ oder Asparaginsäure ¹³²⁾.

Das sog. Esterasezentrum enthält die primäre Alkoholgruppe der "Transfer-Aminosäure" Serin sowie in unmittelbarer Nachbarschaft ¹²⁹⁾ aktivierende saure und basische Gruppen. Dabei werden die basischen Gruppen wahrscheinlich durch die Imidazolringe von Histidin-Molekülen gebildet ¹³³⁾. Die Identität der sauren Gruppen ist dagegen noch nicht eindeutig geklärt ¹²⁹⁻¹³⁰⁾.

131) J.C. Eccles, Angew.Chem. 76, 674 (1964)

132) A.L. Hodkin, Angew.Chem. 76, 661 (1964)

133) A.F. Huxley, Angew.Chem. 76, 668 (1964)

134) G.R. Porter, H.N. Rydon, J.A. Schofield, Nature H. 4640, 927 (1958)

Für die eigentlichen Hydrolysevorgänge an der AChE gewinnt die Theorie von PORTER, RYDON und SCHOFIELD¹³⁴⁾ immer mehr an Bedeutung. Ein zunächst von CUNNINGHAM¹³⁵⁾ formulierter Mechanismus (Umacylierung von Acetylcholin) war mit anderen Untersuchungen von CRAMER und MACKENSEN¹³⁶⁾ nicht in Einklang zu bringen.

Nach der "Oxazolin-Hypothese"¹³⁴⁾ soll die Serin-OH-Gruppe mit der benachbarten Aminodicarbonsäure ein Δ^2 -Oxazolin bilden. Der entstandene Oxazolinstickstoff soll dann an der "in Position" gebrachten Estercarbonylgruppe des ACh angreifen mit anschließender Umlagerung und Abspaltung des Esteralkohols.

Gegen diesen Mechanismus wurde von BENDER¹³⁷⁾ und HEILBRONN¹³⁸⁾ vorgebracht, daß solch drastische Veränderungen einer Peptidkette unter physiologischen Bedingungen nicht denkbar seien. Dagegen unterstützen neuere Untersuchungen von SHALITIN¹³⁹⁾ die Oxazolin-Hypothese von PORTER et al. Daneben gibt es in der Literatur noch viele andere Arbeitshypothesen von verschiedenen anderen Autoren¹⁴⁰⁾, die aber alle der Oxazolin-Hypothese unterlegen sind.

135) L.W. Cunningham, Science 125, 1145 (1957)

136) F. Cramer, G. Mackensen, Angew.Chem. 78, 641 (1966)

137) M.L. Bender, Chem.Rev. 60, 53 (1960)

138) E. Heilbronn, Biochem.Pharmacol. 12, 25 (1963)

139) Y. Shalitin, S.A. Bernhard, J.Am.Chem.Soc. 88, 4711 (1966)

140) R. Wegler, Chemie d. Pflanzenschutz- u. Schädlingsbekämpfungsmittel, Bd. 1, 246, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New-York, 1970

141) G. Schrader, zit. in Houben-Weyl, Bd. 12/2, 288 u. 385

5.2. Giftung durch Organophosphate

Nach den umfassenden Synthesearbeiten von SCHRADER 141-142) auf dem Gebiet der Organophosphat-Insektizide (1933-1950) interessierten sich immer mehr Arbeitskreise 127)129)134)139) für die lebensbedrohlichen Auswirkungen, die Vergiftungen mit Organophosphaten beim Menschen hervorrufen. Dies geschieht bis heute mit unverminderter Intensität, da bestimmte Verbindungen dieser Substanzklasse als Kampfstoffe (z.B. Sarin, Soman, Tabun) mit chemischer Wirkung gelten.

Die Wirkung der organischen Phosphorsäureester besteht in ihrer totalen Hemmmöglichkeit der Acetylcholinesterhydrolyase. Die Blockierung der AChE geschieht dabei durch eine Dialkylphosphorylierung der Serin-OH-Gruppe im esteratischen Zentrum.

Zunächst bildet sich ein Komplex zwischen AChE und dem betreffenden Alkylphosphat aus, welcher durch Abspaltung des am stärksten aciden Restes bei gleichzeitiger Ausbildung einer P-Bindung zum Hydroxylsauerstoff des Serins unter Bildung einer "Dialkylphosphoryl-AChE" entsteht. Bei einer Paraoxonvergiftung* kommt es dabei zur Abspaltung von p-Nitrophenol und der Bildung von Diethylphosphoryl-AChE.

Durch die Blockade der AChE für die Hydrolyse von Acetylcholin kommt es sehr rasch zu einer starken Akkumulierung von ACh im gesamten Körper, welches nicht mehr abgebaut wird.

*) Paraoxon = p-Nitrophenyl-diethyl-phosphat

142) G. Schrader, Die Entwicklung neuer insektizider Phosphorsäureester, 3. Aufl., Verlag Chemie Weinheim/Bergstraße (1963)

Je nach der Art des die Vergiftung herbeiführenden Organophosphates gelingt es dem Organismus mitunter, eine Eigenhydrolyse der Dialkylphosphoryl-AChE durchzuführen; meist jedoch "altert" das blockierte Enzym. Diese "Alterung" stellt dann eine irreversible Schädigung des Enzyms dar ¹²⁵⁾. Durch Versuche von RILEY et al. ¹⁴³⁾ konnte gezeigt werden, daß bestimmte Serinderivate mit Diphenylphosphorsäureestern in vitro unter rascher β -Eliminierung reagieren und überwiegend Dehydroalaninverbindungen aufgearbeitet werden konnten. SHALITIN und BERNHARD ¹³⁹⁾ konnten durch die Hydrolyse von acetyliertem Serin in ausgewählten Peptidstrukturen ebenfalls zeigen, daß bis zu 68% eines Dehydroalaninderivates zu erhalten waren. Daher kann von einer β -Eliminierung als zumindest einer Reaktion der "Alterung" ausgegangen werden. Die nachträgliche Addition von Wasser an die Doppelbindung des Dehydroalaninderivates ist zwar theoretisch denkbar, konnte aber bislang durch Nachwaschen irreversibel gehemmter AChE nicht bestätigt werden ¹⁴⁰⁾.

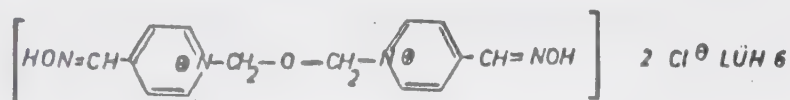
5.3. Möglichkeiten der Reaktivierung

Durch das von WILSON et al. ⁶⁹⁾ vor etwa 30 Jahren entdeckte Pyridin-2-aldoxim-methojodid (2-PAM) gelang es erstmals, kausaltherapeutisch eine Vergiftung durch Organophosphate erfolgreich zu behandeln. Daher war der Einsatz

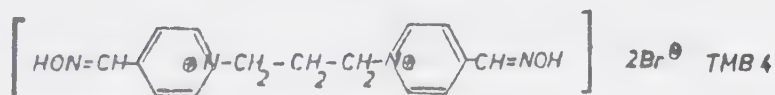
143) G. Riley, J.H. Turnbull, J.Chem.Soc. 1957, 1373

von 2-PAM zwar ein bedeutungsvoller Anfang in der wirksamen Behandlung von Vergiftungen mit Organophosphaten, aber die Notwendigkeit einer hohen Dosierung war nicht unproblematisch. Im Arbeitskreis von POZIOMEK ¹⁴⁴⁾ wurde 1958 dann im Reaktionsprodukt aus 2 Mol Pyridin-4-aldoxim und einem Mol 1,3-Dibrompropan ein neues Antidot gefunden, welches dem 2-PAM hinsichtlich der Reaktivierungsgüte weit überlegen war, doch machte die hohe Eigentoxizität ¹⁴⁵⁾ der "TMB-4" bezeichneten Substanz deren Anwendung in der Humanmedizin fragwürdig.

Eine erfolgreichere Weiterentwicklung stellte dann aber das 1963 von der Fa. Merck (Darmstadt) unter dem Markennamen Toxogonin^R in den Handel gebrachte Antidot Obidoxim dar, welches im Arbeitskreis von LÜTTRINGHAUS ¹⁴⁶⁻¹⁴⁷⁾ entwickelt worden war unter der Codebezeichnung LÜH-6.



Toxogonin^R (LÜH-6) unterscheidet sich nur geringfügig von TMB-4,



144) E.J. Poziomek, B.E. Hackley, G.M. Steinberg, J.Org.

Chem. 23, 714 (1958)

145) N. Engelhard, W.D. Erdmann, Arzneim.Forsch. 14, 5 (1964)

146) A. Lüttringhaus, I. Hagedorn, Arzneim.Forsch. 14, 1 (1964)

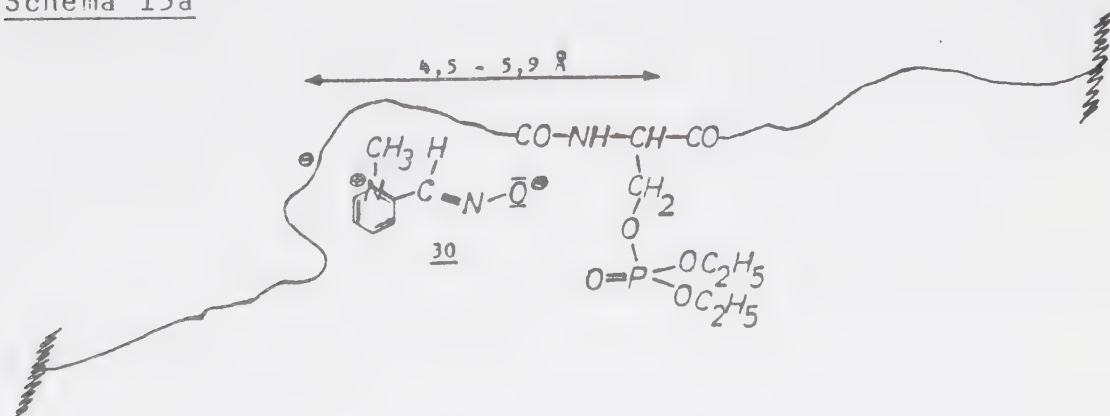
147) N. Engelhard, W.D. Erdmann, Arzneim.Forsch. 14, 870 (1964)

denn formal ist eine Methylengruppe nur durch ein Sauerstoffatom ersetzt worden. Überraschenderweise erwies sich aber Obidoxim in den pharmakologischen Tests ¹⁴⁷⁻¹⁴⁹⁾ als wesentlich weniger toxisch als TMB-4 bei dem gegenüber vergleichbar hoher Reaktivierungsqualität.

Um als Antidot wirken zu können, müssen diese Substanzen unter physiologischen Bedingungen in der Lage sein, Organophosphate vor der Enzymgiftung zu binden oder aber die Alkylphosphoryl-AChE vor dem Alterungsprozeß zu hydrolysieren ¹⁵⁰⁾.

Über den Wirkungsmechanismus am Enzym ist bislang nur durch HAGEDORN ¹⁴⁶⁾ eine Arbeitshypothese vorgestellt worden. Danach wird, nach "Anbindung" des kationischen Molekülteils am anionischen Zentrum des Enzyms, die nucleophile Aldoximgruppe, die unter physiologischen Bedingungen partiell als Betain-Anion vorliegt, in unmittelbare Nähe des phosphorylierten Enzyms gebracht:

Schema 13a

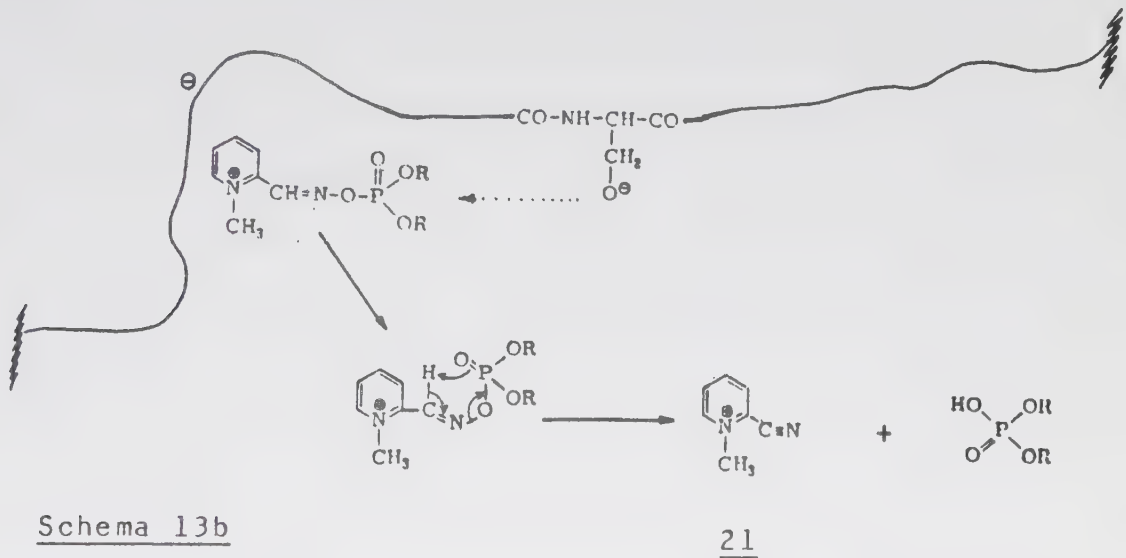


148) N. Engelhard, K. Prchal, M. Nenner, Angew.Chem. 79, 604 (1967)

149) W.D. Erdmann, H. Oettel, Dtsch.Ärztebl. 31, 1644 (1967)

150) E. Zoch, Pharm.Ztg. 123, 944 (1978)

Nach nucleophiler Substitutionsreaktion zwischen der Oximatgruppe und dem Phosphorylrest (als Primärreaktion) ¹⁵¹⁾, was die Übernahme des Phosphorylrestes vom inhibierten Enzym bedeutet, soll nach HAGEDORN als geschwindigkeitsbestimmender Sekundärschritt der Zerfall des zwischendurch gebildeten phosphorylierten Aldoxims in Form einer β -cis-Eliminierung erfolgen (Schema 13b):



Daraus geht das Nitrilsalz 21 und untoxische Dialkylphosphorsäure hervor, die beide ausgeschieden werden können.

Für diesen Mechanismus, der am Beispiel von Para-oxon-gehemmter AChE und 2-PAM dargestellt wurde (Schema 13a u. 13b), sprechen folgende Befunde:

1) es ist bekannt ¹⁵²⁾, daß Aldoxime mit Diethylphosphorsäurechlorid in Pyridin oder auch thermisch in einem geeigneten Lösungsmittel zu Nitrilen umsetzbar sind.

151) R.D. O'Brien, Toxic Phosphorus Esters, Academic Press, London-New-York, 1960

152) T. Mukaiyama, T. Fujisawa, Bull-Chem.Soc.Japan (Tokyo) 34, 812 (1961)

2) Ketoxime, die nach Phosphorylierung nur eine zeitabhängige hydrolytische Spaltung erleiden und keine Nitrile bilden können, sind als Reaktivatoren unwirksam ¹⁵³⁾.

3) Ein synchroner, cyclischer Eliminierungsmechanismus stände im Einklang mit der auch bei der Alterung (S.108) postulierten β -Eliminierung, so daß die Rolle der Reaktivierung durch Pyridiniumaldoxime darin bestehen würde, die Alterung der inhibierten AChE auf eine " Alterung des Oximphosphates " zu verlagern.

Nach den Befunden von WEBER ²⁹⁾ stellte sich jedoch zunächst die Frage, ob ein cyclischer Eliminierungsprozeß beim Zerfall des intermediär gebildeten Oximphosphats für die Reaktivierungswirkung unbedingt notwendig ist. Zur Klärung dieser Frage fehlten bislang Untersuchungen sowohl am (Z)-2-PAM als auch an der einer Reihe von (E)-konfigurierten Pyridinium-Ketoximen 16. Mit den im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Verbindungen sollten diese Tests nun vorgenommen werden.

153) J.B. Wilson, C. Quan, Arch.Biochem. 77, 286 (1958)

5.4. In-vitro Testung von möglichen Antidotsubstanzen

Vielfach waren Substanzen, die auf ihre möglichen Reaktivierungsqualitäten gegenüber Organophosphat-gehemmter Acetylcholinester-Hydrolase untersucht worden waren, in der sog. "Warburg-Apparatur" ¹²⁵⁾ getestet worden ¹⁵⁴⁻¹⁵⁷⁾.

Neuere Verfahren ¹⁵⁰⁾¹⁵⁸⁾, die ebenfalls wie das Warburg-Verfahren titrimetrisch nach der pH-Stat-Methode die Umsetzung einer Reaktivatorsubstanz mit vergiftetem Enzym zu verfolgen gestatteten, brachten wesentlich genauere Ergebnisse hervor.

Eine allgemeine Schwierigkeit war jedoch immer die Instabilität der Acetylcholinesterase gewesen und die damit verbundene mangelhafte Reproduzierbarkeit von Meßergebnissen. Durch die Kopplung an ein Copolymerisat aus Maleinsäureanhydrid und Butandioldivinylether, die erstmals von der Arbeitsgruppe OHNESORGE ¹⁵⁹⁾ durchgeführt wurde, konnte ein stabiles Enzym erhalten werden. Durch weitere Modifikation der Präparationstechnik ¹⁶⁰⁾ gelang es MENZEL, ein trägergebundenes

154) A.L. Green, H.J. Smith, J.Biochem. 68, 28 (1958)

155) A.L. Green, B. Saville, J.Chem.Soc. 1956, 3887

156) N. Engelhard, W.D. Erdmann, Klin.Wochenschr. 41, 525 (1963)

157) R.J. Kitz, S. Ginsburg, I.B. Wilson, Biochem.Pharmacol. 14, 1471 (1965)

158) K. Schoene, R. Wulf, Arzneim.Forsch. 22, 1802 (1972)

159) C. Alsen, U. Bertram, T. Gersteuer, F.K. Ohnesorge, Biochim.Biophys.Acta 377, 297 (1975)

160) H. Menzel, F.K. Ohnesorge, Hydrochem.hydrogeol., Mittl.3, (1978)

Enzym in guten Ausbeuten zu erhalten, welches nur 10% Aktivitätsverlust in 1/2 Jahr aufwies (4° C im Dunkeln).

Für die Testung der Salze 16 wurde diese trägergebundene Acetylcholinesterase aus *Electrophorus electricus* in Verbindung mit dem photometrischen Meßverfahren nach ELLMAN ¹⁶¹⁾ verwendet.

5.5. Auswertung der in-vitro Untersuchungen

Zur Beurteilung der Reaktivierungsleistung der einzelnen Substanzen wurde die max. Reaktivierung (in %) nach 4 Min. herangezogen, bezogen auf einen ungehemmten Kontrollansatz (= 100%-Wert).

Dabei zeigte sich, daß alle Ketoxime 16, unabhängig von ihrer Konfiguration, keine Reaktivierungseigenschaften besaßen. Bis nach einer Meßzeit von 30 Min. konnte keine Reaktivierung festgestellt werden. Es konnte lediglich die Spontan-Hydrolyse des Testsubstrates Acetylthiocholin beobachtet werden, die nach 10 Min. eingetreten war.

Dagegen konnte bei allen vier getesteten Aldoximsalzen, eine Reaktivierung des gehemmten Enzyms festgestellt werden (Tabelle 21). Neben den beiden Salzen (E)-16a und (Z)-16a waren dies (E)-19 und Toxogonin^R, dessen deutliche Überlegenheit gegenüber dem (E)-2-PAM dabei bestätigt wurde ¹⁵⁸⁾.

161) G.L. Ellman, K.D. Courtney, V. Andres, R.M. Featherstone, Biochem. Pharmacol. 7, 88 (1961)

162) F. Hauschild, M. Maschhour, R. Schmiedel, W.D. Wiezorek, Experientia 19, 628 (1963)

Tabelle 21

Testsubstanzen	Max. erzielbare Enzymaktivität nach 4 Min. (% der ungehemmten Kontrolle → 100%-Wert) ¹⁶²⁾					
	$2 \cdot 10^{-3} \text{M}$	$5 \cdot 10^{-4} \text{M}$	$2 \cdot 10^{-4} \text{M}$	$1 \cdot 10^{-4} \text{M}$	$2 \cdot 10^{-5} \text{M}$	$1 \cdot 10^{-5} \text{M}$
Toxogonin ^R	98,4%	96,2%	95,2%	---	93,1%	86,0%
(<u>E</u>)-16a = (<u>E</u>)-2-PAM	92,5%	70,5%	58,9%	57,6%	37,5%	27,3%
(<u>Z</u>)-16a = (<u>Z</u>)-2-PAM	69,3%	39,8%	26,6%	15,7%	12,9%	6,3%
(<u>Z</u>)-16a = (<u>Z</u>)-2-PAM n. 10 Tg.	65,6%	36,6%	25,6%	---	---	---
(<u>E</u>)-19 = (<u>E</u>)-4-PAM	25,5%	16,8%	16,2%	6,2%	---	0,6%

Die Werte der Tabelle 21 stehen in guter Übereinstimmung mit anderen ¹⁵⁶⁾ Ergebnissen. Für die Werte wurde die Aktivitätsdifferenz zwischen dem jeweiligen 100%-Wert der Meßreihe und dem Hemmwert der gleichen Meßreihe gleich "100%" gesetzt. Die nach 4 Min. erzielte max. Enzymaktivität des zuvor gehemmten Enzyms mit "Reaktivator-Zusatz" wurde deshalb gewählt, weil zu diesem Zeitpunkt die Spontan-Hydrolyse als auch die Eigenhemmung der Reaktivatorsubstanzen die Messung am geringsten beeinflussen ¹⁵⁸⁾.

Überraschenderweise zeigte das (Z)-2-PAM ((Z)-16a) eine Reaktivatorleistung, die zwar deutlich hinter der des Toxogonins^R zurückblieb und auch nicht die Qualität des E-Isomeren erreichte, dafür aber noch besser war als die des (E)-4-PAM. Für dieses Verhalten kann weder der geringfügige Restanteil des (E)-Isomeren (5%, s.S. 74) noch eine Rückisomerisation

zur E-Konfiguration als Erklärung herangezogen werden, denn eine Isomerisation war innerhalb der Meßzeit und in dem gewählten pH-Milieu des Testansatzes auf Grund der NMR-Untersuchungen auszuschließen. Darüberhinaus bestätigte eine erneute Messung mit den gleichen Reaktivatorlösungen nach 10 Tagen (unter Verwendung der drei größten Testkonzentrationen) die zunächst gefundenen Werte. Im Falle einer Isomerisation zur pharmakologisch aktiveren E-Form hätten dagegen deutlich höhere Reaktivierungswerte festgestellt werden müssen (Tabelle 21).

Zur graphischen Darstellung wurde der reziproke Wert der Prozent-Reaktivierung gegen den reziproken Wert der Reaktivatorkonzentration analog den Arbeiten von ENGELHARD/ERDMANN ¹⁵⁶⁾ aufgezeichnet. Im Gegensatz zu deren Darstellung ist die Ableitung einer Michaelis-Konstanten nicht möglich als Maß für die Entgiftung. Aus der Tab. 22 und der daraus

Tabelle 22

Testsubstanzen	1 : %-Enzymaktivität der reziproken Konz.					
	$5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$	$2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	$5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	$1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	$5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	$1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$
Toxogenin ^R	0,0102= $1,02 \cdot 10^{-2}$	0,0104= $1,04 \cdot 10^{-2}$	---	---	0,0108= $1,08 \cdot 10^{-2}$	0,012= $1,2 \cdot 10^{-2}$
(E)-16a = (E)-2-PAM	0,0108= $1,08 \cdot 10^{-2}$	0,0140= $1,40 \cdot 10^{-2}$	0,0170= $1,70 \cdot 10^{-2}$	0,0174= $1,74 \cdot 10^{-2}$	0,0270= $2,7 \cdot 10^{-2}$	0,0370= $3,7 \cdot 10^{-2}$
(Z)-16a = (Z)-2-PAM	0,0144= $1,44 \cdot 10^{-2}$	0,0251= $2,51 \cdot 10^{-2}$	0,0380= $3,80 \cdot 10^{-2}$	0,0390= $3,90 \cdot 10^{-2}$	0,0775= $7,75 \cdot 10^{-2}$	0,1587= $1,59 \cdot 10^{-1}$
(Z)-16a = (Z)-2-PAM n. 10 Tg.	0,0152= $1,52 \cdot 10^{-2}$	0,0273= $2,73 \cdot 10^{-2}$	0,0390= $3,90 \cdot 10^{-2}$	---	---	---
(E)-19 = (E)-4-PAM	0,0390= $3,90 \cdot 10^{-2}$	0,0595= $5,95 \cdot 10^{-2}$	0,0667= $6,67 \cdot 10^{-2}$	0,1610= $1,61 \cdot 10^{-1}$	---	1,6130= $16,1 \cdot 10^{-1}$

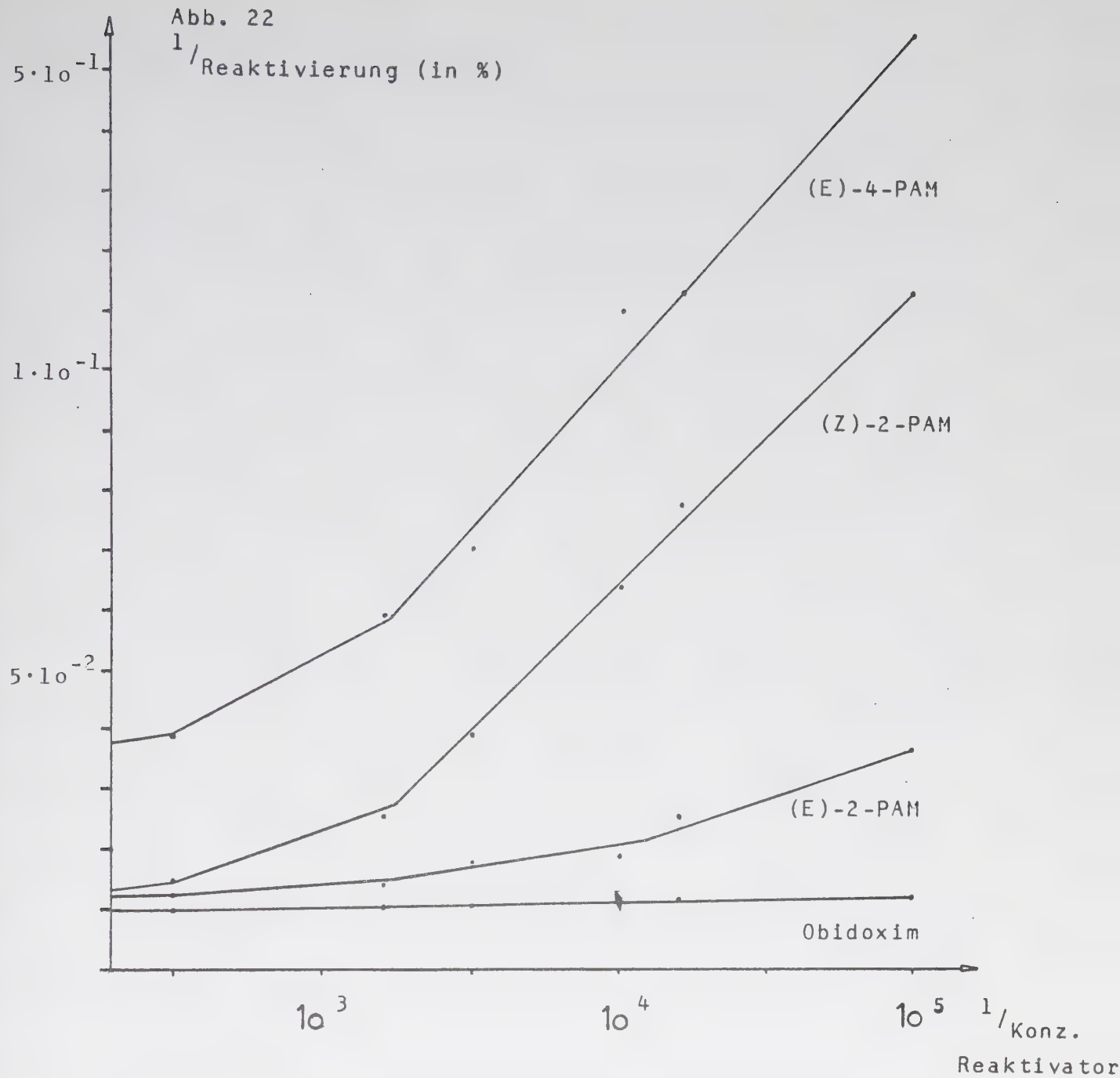
erstellten Abb. 22 ist gut zu sehen, daß die Reaktivierung deutlich mit abnehmender Konzentration der Testsubstanzen kleiner wird, mit Ausnahme von Obidoxim (Toxogonin^R).

Die Meßpunkte der nach 10 Tagen mit den gleichen (Z)-2-PAM-Lösungen wiederholten Meßreihe liegen nur unwesentlich oberhalb der aufgetragenen Meßpunkte von (Z)-2-PAM, die aus der sofort nach dem Lösen von (Z)-2-PAM erstellten Meßreihe hervorgingen. Der Übersichtlichkeit wegen wurde auf die Einzeichnung dieser Meßpunkte in die Abb. 22 verzichtet.

Aus den Untersuchungen läßt sich der Schluß ziehen, daß die Reaktivierung von Organophosphat-gehemmter Acetylcholinester-Hydrolase nicht ausschließlich an die Konfiguration eines Reaktivators gebunden ist. Dies bedeutet, daß die β -cis-Eliminierung⁹⁷⁾ nicht die einzige Möglichkeit des Reaktivierungsmechanismus sein kann.

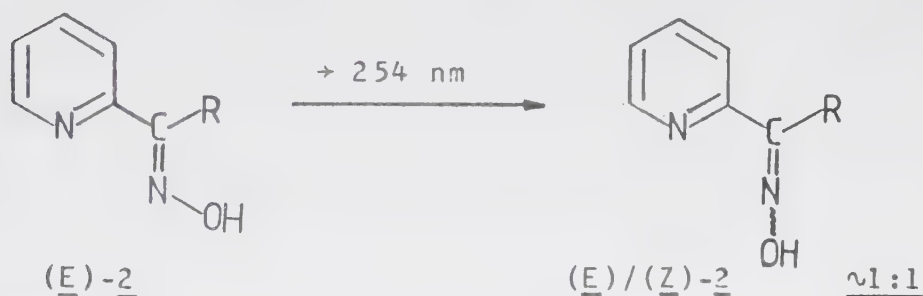
Dagegen scheint die Aldoximfunktion essentiell zu sein für eine Substanz, die eine Reaktivierung am Organophosphat-vergifteten Enzym AChE erreichen soll.

Abb. 22



6. ZUSAMMENFASSUNG

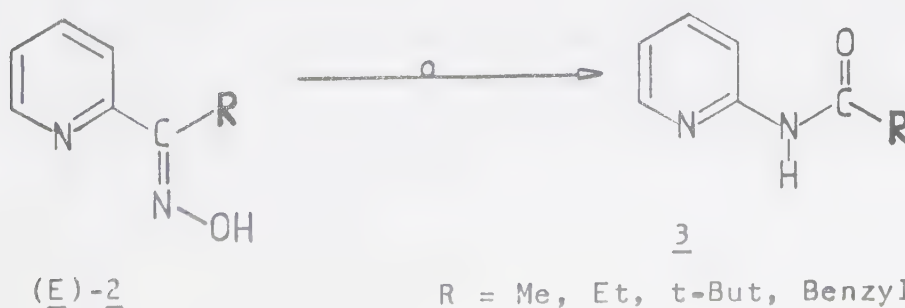
1. Es wurde eine Reihe von Oximen 2-acylierter Pyridine jeweils in Form eines (E)/(Z)-Isomerengemisches durch Bestrahlung von Lösungen der reinen (E)-Form hergestellt. Anschließend konnte durch die schonende Trennungsmethode der CRAIG-Verteilung das jeweilige Isomerengemisch in die reinen Stereoisomere aufgetrennt werden. Die CRAIG-Verteilung zeichnet sich durch unproblematische Lösungsmittel und Arbeiten bei Raumtemperatur aus.

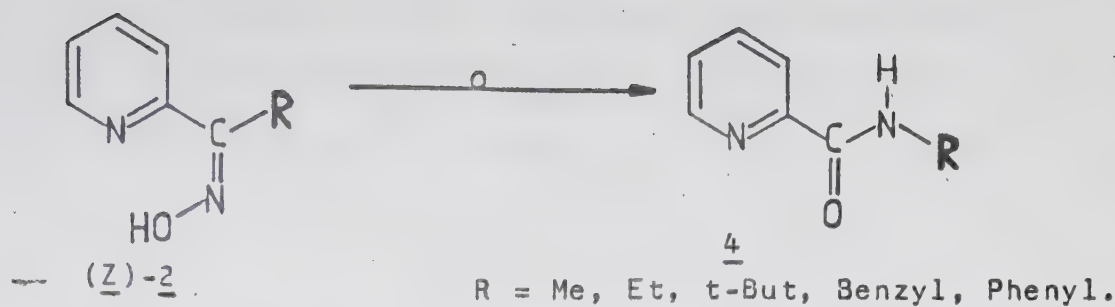


R = H, Me, Et, t-But, Benzyl, Phenyl.

Die Isomere wurden UV, IR und NMR-spektroskopisch charakterisiert und ihre Stabilität in wässrigen Lösungen mit unterschiedlichen pH-Bereichen untersucht.

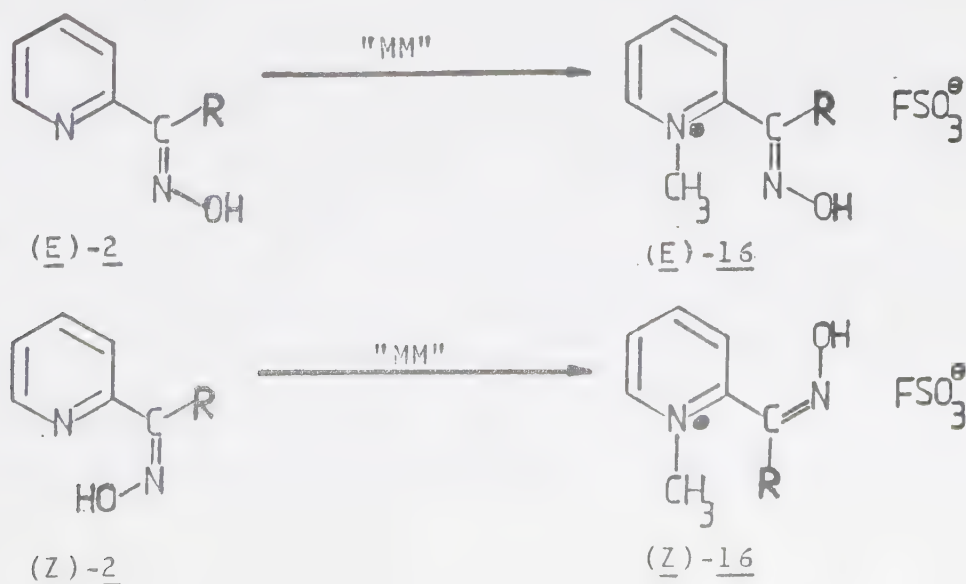
2. Die Beckmann-Umlagerung bot sich für die Struktur-sicherung der Ketoxime von 2 an, weil sie normalerweise stereospezifisch verläuft.





Als klassische Beckmann-Reagenzien fanden reines Benzolsulfochlorid, Thionylchlorid in Ether und fein suspendiertes Phosphorpentachlorid in Chloroform ihre Anwendung. Nur das Letztgenannte lieferte die entsprechenden "richtigen" Amide 3 und 4 mit Ausnahme von 3d und 4d ($R = t\text{-But}$). Diese Amide konnten erstmals durch Benzolsulfochlorid in 15proz. Natronlauge/Isopropanol erhalten werden. Bei diesem nach BROWN ⁵³⁾ modifizierten Beckmann-Reagenz traten weder Fragmentierungen noch Isomerisierungen auf, sodaß ein für alle 2-Pyridyl-Ketoxime 2 optimales Umlagerungsreagenz gefunden worden war.

3. Aus den Ketoximen (E)-2 und (Z)-2 werden mit Fluorsulfonsäuremethylester ('Magic Methyl', "MM") die Ketoxime der Pyridiniumsalze (E)- und (Z)-16 erhalten. Dabei bleibt die Ausgangskonfiguration der Ketoxime bestehen.



Versuche, aus dem (Z)-Pyridinaldoxim über den gleichen Weg das quartäre Salz zu erhalten, gelangen nicht. Es konnte überraschenderweise nur das C-(2-Pyridyl)-N-methylnitron 17 erhalten werden:



Ein anderer Weg zur Darstellung von (Z)-16a aus (Z)-2a durch Oximierung des 2-Formyl-1-methylpyridinium-salzes 20 brachte nur unbefriedigende Ergebnisse hervor. Erst durch die Bestrahlung des (E)-Aldoximsalzes (E)-16a in wäßriger Lösung gelingt die Darstellung eines Isomeren-gemisches mit 40% Z-Anteilen. In diesem Gemisch sind auch noch ~5% des Dehydratisationsproduktes 21 enthalten. Aus diesem Salzgemisch läßt sich (Z)-16a (= (Z)-2-PAM) nur durch fraktionierte Kristallisation 95% rein gewinnen. Ein Restanteil von 5% des E-Isomeren läßt sich nicht weiter abtrennen.

Die Pyridiniumsalze 16 werden UV, IR und NMR-spektroskopisch charakterisiert. Das Aldoximsalz (Z)-16a wird darüberhinaus NMR-spektroskopisch in Lösungen mit unterschiedlichen pH-Werten untersucht. Dabei zeigt sich, daß bei schwach saurem Milieu die größte Stabilität gegeben ist.

4. Die O-Benzoesäureester (E)-26 von (E)-2-PAM, (E)-4-PAM und von (E)-16b werden dargestellt und deren Zerfall in wäßrigen Lösungen bei verschiedenen pH-Werten UV-spektros-

kopisch untersucht. Dabei zeigt sich, daß der Ketoxim-ester (E)-26b im alkalischen Milieu nur einer Verseifung zum Oxim und Benzoesäure unterliegt, während aus dem Aldoximester (E)-26a durch Eliminierung ausschließlich das Nitrilsalz 21 und in Folge davon das 2-Pyridon 24 hervor-geht. Der Aldoximester (E)-26c unterliegt dagegen sowohl einer Hydrolyse als auch einer Eliminierung in stets gleich-bleibendem Verhältnis von 1:1.

5. Die Aldoximsalze (E)-2-PAM und (Z)-2-PAM wurden zunächst auf ihre Reaktivatoreigenschaften gegenüber Para-oxon-vergifteter Acetylcholinester-Hydrolase in vitro getestet. Dabei konnte festgestellt werden, daß nicht nur (E)-2-PAM, sondern auch (Z)-2-PAM Reaktivatoreigenschaft besitzt. Allerdings blieb die Reaktivatorleistung des (Z)-2-PAM deutlich hinter der des (E)-Isomeren zurück. Damit kann aber der Reaktivierungsmechanismus in Form der β -cis-Eliminierung, der für (E)-2-PAM postuliert wurde ⁹⁷⁾, nicht allein als Erklärung für die Reaktivierung am Paraoxon-ver-gifteten Enzym AChE dienen. Die Möglichkeit der trans-Elimi-nierung muß für das (Z)-2-PAM in Betracht gezogen werden.

Demgegenüber erwiesen sich die getesteten Ketoxime 16 unabhängig von der Oximkonfiguration als unwirksam. Dies steht im Einklang mit den Befunden zur Stabilität der untersuchten Benzoylester 26. Damit wurde das theoretische Konzept von LÜTTRINGHAUS und HAGEDORN bekräftigt, wonach die Möglichkeit zur spontanen Fragmentierung von O-Acyloximen als Vorausset-zung für eine Reaktivierungspotenz angesehen werden muß.

EXPERIMENTELLER TEIL

1. Allgemeine Angaben

Schmelzpunkte:

ermittelt mit dem Schmelzpunktgerät der Fa. Büchi,
SMP 20, Angaben in ° C ohne Korrektur

Dünnschichtchromatographie:

Grundausrüstung der Fa. Desaga, Heidelberg;

Plattengröße 20 x 20 cm, mit Kieselgel 60 F₂₅₄

beschichtete DC-Aluminiumfolien (Fa. Merck, Nr. 5554).

Laufstrecke 12 - 15 cm.

Detektion: UV - Löschung, Dragendorff's-Reagenz

Fließmittel (Flm.):

I : Methanol 10, Benzol 20, Chloroform 70

II : Aceton 45, Petrolether 60-80° C 55, Ammoniak konz. 1

III : Aceton 40, Chloroform 60

IV : Ether 10, Aceton 20, Benzol 80

V : Ether 50, Methylenchlorid 50, Ammoniak konz. 1

VI : Ethanol 10, Chloroform 90

VII : Ethanol 10, Benzol 45, Chloroform 45, Ammoniak konz. 2

VIII: Ether 20, Petrolether 60-80° C 20, Benzol 60

Craig - Verteilung:

Laborboy 505 der Fa. Labortec, Basel.

Abkürzungen: Uph = Unterphase, Oph = Oberphase,

SB = Schüttelbewegungen, SI = Schüttelintensität,

TZ = Trennzeit.

IR - Spektren:

Perkin-Elmer Spektralphotometer 177;

Feststoffe als KBr-Preßlinge,

Öle in CHCl_3 gegen reines Lösungsmittel.

^1H -NMR-Spektren:

60 MHz-Spektren: Perkin-Elmer-Hitachi

Spektrometer R 24B

80 MHz-Spektren: Varian CFT 20.

Die chem. Verschiebung ist in ppm nach der δ -Skala gegenüber TMS als innerem Standard angegeben. Bei der Angabe der Multiplizitäten bedeuten die Abkürzungen: s = Singulett, d = Dublett, dd = Doppeldublett, t = Triplett, dt = Doppeltriplett, q = Quadruplett, m = Multiplett (Resonanzlage auf das Zentrum bezogen).

Massenspektren:

Varian-Massenspektrometer CH-5/11 und

Finnigan-Massenspektrometer 3500 GC/MS mit 9500 GC.

Die Ionisationsspannung betrug immer 70 e.V.

Elementaranalysen:

Perkin-Elmer Modell 240

UV - Spektren:

Zeiss-Spektralphotometer DM4;

Angabe der Wellenlängen in nm

2. Darstellung der 2-Acylpyridin-oxime 2

Die Darstellung der 2-Acylpyridin-oxime 2 erfolgt nach Literaturangaben durch Oximierung der 2-Acylpyridine 1. Dabei werden die 2-Acylpyridin-oxime 2d und 2f als Isomerengemische erhalten. Das Isomerengemisch 2d liefert ein einheitliches Stereoisomer beim Umkristallisieren, während das Isomerengemisch 2f sc¹⁸⁾ in beide Stereoisomeren zu trennen ist.

(E)-2a: (E)-2-Formylpyridin-oxim^{11,24,29)}

Ausbeute: 95% d. Th.

Schmp: 113 - 114⁰ C (Ether/Petrolether 60-80⁰ C)

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆) : Tab. 8, S. 26

(E)-2b: (E)-2-Acetylpyridin-oxim^{28,29)}

Ausbeute : 91% d. Th.

Schmp. : 120 - 121⁰ C (Ether/Petrolether 60-80⁰C)

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆) : Tab. 8, S. 26

(E)-2c: (E)-2-Propionylpyridin-oxim²⁹⁾

Ausbeute: 88% d. Th.

Schmp. : 105⁰ C (Petrolether 40-60⁰ C)

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆) : Tab, 8, S. 26

(Z)-2d: (Z)-2-(2,2-Dimethylpropionyl)-pyridin-oxim

Isomerengemisch: Ausbeute 80% d. Th.

Schmp. : 116 - 118⁰ C

Lit. ¹⁵⁾: 117 - 119⁰ C

Das anfallende Isomerengemisch unterscheidet sich schon grob quantitativ im DC: bei $R_f = 0,20$ ist ein sehr schwach, bei $R_f = 0,28$ ist ein stark fluoreszenzlöschender Fleck (Detektion unter UV-Licht, Flm. IV) festzustellen. Nach mehrmaligem Umkristallisieren kann nur noch eine Substanz erhalten werden, (Z)-2d, dc-rein.

Ausbeute : 72% d. Th.

Schmp. : $120 - 121^{\circ} \text{ C}$ (Petrolether $40-60^{\circ} \text{ C}$)

R_f : $0,28$ (Flm. IV), $0,72$ (Flm. III)

IR-Spektrum (KBr) : $\nu/\text{cm}^{-1} = 3270, 3130, 2970, 2925, 28,60, 1645, 1578, 1558, 1470, 1452, 1423, 1390, 1360, 1285, 1220, 1145, 1090, 1056, 1038, 1027, 990, 945$ (breit), $930, 895, 790, 760, 740$.

IR-Spektrum ($\text{CHCl}_3/5\%$) : $\nu/\text{cm}^{-1} = 3555$ (breit), 3280 (breit), $2950, 2855, 1580, 1560, 1455$ (breit), $1420, 1387, 1360, 1335, 1280, 1200$ (breit), $1145, 1090, 1055, 1035, 1012, 990, 940$ (breit), $928, 915, 860, 830, 710$ (breit).

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 178 (M^+ 7), 163 (66), 146 (23), 145 (13), 144 (13), 136 (11), 121 (24), 120 (20), 106 (9), 105 (100), 93 (7), 79 (34), 78 (32), 57 (20), 56 (13), 52 (11), 51 (16).

$^1\text{H-NMR-Spektrum}$ (DMSO-d_6): Tab. 8, S. 26

$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$ ($178,2$) Ber.: C 67,4 H 7,86 N 15,7

Gef.: C 67,2 H 7,92 N 15,5

(E)-2e: (E)-2-(α -Phenylacetyl)-pyridin-oxim ^{26,27)}

Ausbeute : 76% d. Th.

Schmp. : 157⁰ C (Chloroform)

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆) : Tab. 8, S. 26

(E)-2f: (E)-2-Benzoylpyridin-oxim ¹⁵⁾¹⁸⁾

(Z)-2f: (Z)-2-Benzoylpyridin-oxim ¹⁵⁾¹⁸⁾

Isomerengemisch: Ausbeute 87% d. Th.

Schmp. : 128 - 135⁰ C

Lit.¹⁵⁾: 124 - 139⁰ C

Trennung des Isomerengemisches 2f :

1,98 g (0,01 mol) des Isomerengemisches 2f (nach DC-Analyse etwa 1:1) wird so an Kieselgel 0,063 - 0,2 aufgetrennt.*
Elution mit Flm. V liefert zuerst das (Z)-Oxim, anschließend das (E)-Oxim in reiner Form. (* d = 2,0 cm, l = 35 cm)

(E)-2f: Ausbeute 81% d. Th.

Schmp. : 152⁰ C (Ethanol/Petrolether 60-80⁰ C)

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆) : Tab. 8, S. 26

(Z)-2f: Ausbeute 95% d. Th.

Schmp. : 166⁰ C (Petrolether 40-60⁰ C)

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆) : Tab. 8, S. 26

Photoisomerisierung der Oxime 2a - 2e :

Allgemeine Vorschrift:

Durch 4 stdg. Photoisomerisierung in wäßriger Pufferlösung*
(0,01 mol der Oxime (E)-2a, (E)-2b und (E)-2c, jeweils in
300 ml Lösungsmittel) oder in etherischer Lösung (0,01 mol

der Oxime (Z)-2d bzw. (E)-2e, jeweils in 300 ml Lösungsmittel) und der Verwendung einer Bestrahlungsapparatur Q 150 (Fa. Hanau; Brennstab: Hg-Niederdruckbrenner TNN 15/32) werden Gemische stereoisomerer Oxime 2a - 2e erhalten. Die DC-Analyse ergibt jeweils in etwa ein $\sim 1:1$ Gemisch von (E)- u. (Z)-Oxim. Nach dem Eindampfen zur Trockne i. Vak. werden nur die Trockenrückstände von 2a, 2b und 2c mit Chloroform erschöpfend extrahiert. Die Chloroformextrakte werden über Na_2SO_4 getrocknet und erneut i. Vak. zur Trockne gebracht. Die Ausbeuten aller Isomerengemische lagen zwischen 85% und 90%. Es werden in jedem Fall weiße Kristallpulver erhalten, die alle in ihrem Isomerenverhältnis durch Umkristallisieren nicht zu verändern waren (Ethanol/Petrolether 60-80⁰ C).

* Pufferlösung pH-7,00 (Fa. Merck, Nr. 9439)

Trennung der Gemische von 2a - 2e :

Jeweils 5 mmol der isomeren Bestrahlungsgemische von 2a - 2e werden in 50,0 ml der entsprechenden Uph gelöst und zu gleichen Teilen in die ersten 5 Verteilelemente (VE) eines Craig-Verteilers einpipettiert (Fassungsvermögen eines VE: 10,0 ml Uph, 10,0 ml Oph). Durch DC-Analyse wird der Verteilungsgrad verfolgt. Nach genügend Verteilschritten können aus den Oph der entsprechenden VE die einheitlichen (Z)-Oxime durch Eindampfen der vereinigten Oph i. Vak. zur Trockne erhalten werden. Nach dem Umkristallisieren (Ether/Petrolether) lassen sich die Oxime (Z)-2a - 2e in reiner Form isolieren.

Die Oxime (E)-2a - 2e können auf die gleiche Weise aus den Oph der VE zurückgewonnen werden, in denen sie dc am Ende der jeweiligen Verteilung nachgewiesen werden.

(Z)-2a: (Z)-Formylpyridin-oxim

Ausbeute: 220 mg (90% d. Th.)

Schmp. : 99 - 100° C (Ether/Petrolether 40-60° C)

Lit. ²²): 99 - 101° C

R_f : 0,34 (Flm. II)

Craig-Verteilung: Uph - Methanol 20, Wasser 80,

Ammoniak konz. 5;

Oph = Ethylacetat 30, Toluol 70.

(Phasensättigung)

Verteilschritte und Auftrennung: Tab. 2, S. 13

SB = 15, SI = 80%, TZ = 60 sec.

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3170, 3050, 1635, 1563, 1497 (breit), 1455, 1440, 1340, 1295, 1204, 1055, 1047, 1003, 960 (breit), 940, 878, 850 (breit), 772, 740.

IR-Spektrum (CHCl₃/5%): ν/cm^{-1} = 3550 (breit), 2980 (breit), 2820, 2770 (breit), 1590, 1550, 1490 (breit), 1465, 1415, 1380, 1287, 1197 (breit), 1098, 1040, 1008, 930 (breit), 892, 848, 710 (breit).

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 122 (M⁺ 100), 121 (18), 105 (8), 104 (13), 93 (8), 92 (49), 91 (10), 79 (71), 78 (47), 66 (16), 65 (87), 53 (40), 52 (51), 51 (27).

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): Tab. 8, S. 26

C₆H₆N₂O (122,1) Ber.: C 59,0 H 4,96 N 22,9
Gef.: C 59,1 H 5,05 N 22,7

(Z)-2b: (Z)-2-Acetylpyridin-oxim

Ausbeute: 300 mg (92% d. Th.)

Schmp. : 95° C (Ether/Petrolether 60-80° C)

R_f : 0,37 (Flm. II)

Craig-Verteilung: Uph = Methanol 15, Wasser 85,

Ammoniak konz. 1;

Oph = Ethylacetat 30,

Petrolether 60-80° C 70

(Phasensättigung)

Verteilschritte und Auftrennung: Tab. 2, S. 13

SB = 15, SI = 90%, TZ = 60 sec.

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3150 (breit), 3030 (breit),
2810 (breit), 1635, 1590, 1563, 1460, 1434, 1378, 1310,
1280, 1237, 1152, 1115, 1020, 1008, 965 (breit), 938,
890, 785, 752, 740.

IR-Spektrum (CHCl₃/5%): ν/cm^{-1} = 3550 (breit), 2960
(breit), 2905, 1580 (breit), 1550, 1492 (breit), 1462,
1372, 1308, 1195 (breit), 1155, 1132, 1105, 1086, 1025
(breit), 1004, 942 (breit), 885, 825 (breit), 710 (breit).

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 136 (M⁺ 100),
135 (49), 121 (13), 119 (30), 106 (29), 105 (31), 104 (34),
92 (19), 79 (35), 78 (93), 65 (10), 57 (13), 52 (38),
51 (48).

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): Tab. 8, S. 26

C₇H₈N₂O (136,2) Ber.: C 61,8 H 5,92 N 20,5
Gef.: C 61,9 H 5,96 N 20,4

(Z)-2c: (Z)-2-Propionylpyridin-oxim

Ausbeute: 321 mg (95% d. Th.)

Schmp. : 90 - 91⁰ C (Petrolether 40-60⁰ C)

R_f : 0,45 (Flm. II)

Craig - Verteilung: Uph = Methanol 20, Wasser 80,

Ammoniak konz. 1;

Oph = Ethylacetat 30,

Petrolether 40-60⁰ C 70

(Phasensättigung)

Verteilschritte und Auftrennung: Tab. 2, S. 13

SB = 20, SI = 80%, TZ = 60 sec.

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3185 (breit), 3055 (breit),
2960, 2860 (breit), 1642, 1590, 1562, 1490, 1453, 1430,
1280, 1160, 1100, 1070, 1043, 1008, 970, 960 (breit),
932, 810, 796, 745.

IR-Spektrum (CHCl₃/5%): ν/cm^{-1} = 3550 (breit), 2960
(breit), 2930, 2860, 1580 (breit), 1550, 1495 (breit),
1455, 1413, 1370, 1300, 1280, 1195 (breit), 1155, 1130,
1070, 1050, 1010, 970, 950, 937, 825 (breit), 710 (breit).

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 150 (M⁺ 76), 133 (100)
131 (28), 117 (35), 106 (22), 105 (81), 104 (45), 92 (13),
79 (73), 78 (76), 77 (16), 65 (10), 52 (25), 51 (44).

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): Tab. 8, S. 26

C₈H₁₀N₂O (150,2) Ber.: C 63,9 H 6,71 N 18,6

Gef.: C 63,9 H 6,78 N 18,5

(E)-2d: (E)-2-(2,2-Dimethylpropionyl)-pyridin-oxim

Ausbeute: 317 mg (79% d. Th.)

Schmp. : 139 - 140⁰ C (Ether)

R_f : 0,58 (Flm. III)

Craig - Verteilung: Uph = Methanol 15, Wasser 85,

Ammoniak konz. l;

Oph = Ether 30, Benzol 70

(Phasensättigung)

Verteilschritte und Auftrennung: Tab. 2, S. 13

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3230, 3130 (breit), 3000 (breit), 2980, 2830 (breit), 1620, 1585, 1563, 1475, 1425, 1390, 1355, 1280, 1228, 1150, 1090, 1060, 1040, 1003, 990, 935 (breit), 920, 882, 785, 747.

IR-Spektrum (CHCl₃/5%): ν/cm^{-1} = 3560, 3270 (breit), 3210 (breit), 2950, 2895, 2880, 1580, 1560, 1465 (breit), 1413, 1390, 1355 (breit), 1280, 1195 (breit), 1145, 1088, 1050, 1035, 1010 (breit), 990, 930 (breit), 885, 830 (breit), 710 (breit), 690 (breit).

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 178 (M⁺ 24), 163 (64), 146 (24), 145 (14), 144 (11), 136 (12), 121 (16), 120 (22), 106 (46), 105 (100), 93 (19), 79 (30), 78 (41), 57 (28), 56 (14), 52 (11), 51 (31).

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): Tab. 8, S. 26

C₁₀H₁₄N₂O (178,2) Ber.: C 67,4 H 7,86 N 15,7

Gef.: C 67,6 H 7,76 N 15,6

(Z)-2e: (Z)-2-(α -Phenylacetyl)-pyridin-oxim

Ausbeute: 344 mg (81% d. Th.)

Schmp. : 134⁰ C (Ether/Petrolether 60-80⁰ C)

R_f : 0,36 (Flm. V)

Craig - Verteilung: Uph = Methanol 35, Wasser 60,

Ammoniak konz. 5;

Oph = Ethylacetat 35,

Petrolether 100-140⁰ C 65

(Phasensättigung)

Verteilungsschritte und Auftrennung: Tab. 2, S. 13

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3185 (breit), 3060 (breit), 3005, 2860 (breit), 1637, 1605, 1592, 1570, 1495, 1470, 1457, 1435, 1418, 1340, 1286, 1240, 1160, 1103, 1095, 1070, 1050, 1030, 1005, 980, 967 (breit), 918, 848, 830, 795, 745, 700.

IR-Spektrum (CHCl_3 /5%): ν/cm^{-1} = 3575 (breit), 3060, 2995 (breit), 1590, 1552, 1492, 1470, 1455, 1424, 1342, 1310, 1225 (breit), 1160, 1130, 1087, 1073, 1015, 990 (breit), 920 (breit), 890 (breit), 830 (breit), 695.

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 212 (M^+ 58), 195 (47), 194 (100), 193 (38), 180 (14), 167 (23), 121 (15), 106 (11), 105 (10), 91 (30), 90 (22), 78 (23), 65 (12), 51 (10).

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d_6): Tab. 8, S. 26

$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$ (212,2) Ber.: C 73,6 H 5,69 N 13,2

Gef.: C 73,8 H 5,78 N 13,1

3. Beckmann - Umlagerung der Ketoxime 2

a) Mit Phosphorpentachlorid

Je 300 mg des entsprechenden Ketoxims 2, mit Ausnahme von 2d und 2f, werden fein verrieben in 50 ml absol. Ether gelöst. Es wird auf 5° C abgekühlt und langsam eine Lösung von 300 mg PCl_5 in 25 ml absol. Chloroform zugetropft unter magnetischem Rühren. Nach 4 stdg. Rühren wird mit Eis unter Vermeidung einer Temperaturerhöhung vorsichtig hydrolisiert. Die org. Phase wird abgetrennt und mit Wasser neutral gewaschen. Der wäßrige Rückstand wird mit verd. Natronlauge auf pH 6 eingestellt und nach Sättigung mit Ammoniumsulfat erschöpfend mit Chloroform extrahiert. Die org. Phasen werden vereinigt, über MgSO_4 getrocknet und anschließend i. Vak. eingengt. Der Rückstand enthält das jeweilige Umlagerungsprodukt sowie meist noch Ausgangssubstanz und / oder das entsprechende Keton 1.

3b: 2-Acetylaminopyridin (durch Umlagerung von (E)-2b)

Der Trockenrückstand enthält das Ausgangsketoxim (E)-2b (R_f 0,49 Flm. II) in geringer Menge und 3b (R_f 0,57 Flm. II). Die Trennung erfolgt sc: Kieselgel 0,063 - 0,2; Elution mit Toluol/Chloroform 2+8 liefert zuerst das Beckmann-Umlagerungsprodukt 3b; anschließend kann das unveränderte Ketoxim (E)-2b mit Ether/Chloroform 4+6 eluiert werden.

Ausbeute: 146 mg (48% d. Th.)

Schmp. : 71 - 72° C (Bezol/Petrolether 100-140° C),
farblose Kristalle

Lit.¹⁶³⁾: 71° C

163) R. Camps, Arch.Pharm. (Weinheim) 240, 329 (1903)

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3180 (breit), 3110, 3000 (breit), 1690 (breit), 1600, 1580, 1530, 1468, 1435 (breit), 1367, 1305, 1255, 1242, 1158, 1103, 1052, 1047, 1035, 1008, 997, 960, 890, 850, 790, 775, 740.

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 137 (M^+ 18), 136 (M^+ 30), 95 (30), 94 (100), 78 (10), 67 (60), 66 (10), 52 (8), 51 (12).

$^1\text{H-NMR-Spektrum}$ (DMSO- d_6): Tab. 10, S. 44

$\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_2\text{O}$ (136,2) Ber.: C 61,8 H 5,92 N 20,5

Gef.: C 61,7 H 5,86 N 20,6

Das IR-Spektrum von 3b stimmt mit dem IR-Spektrum der durch unabhängige Synthese dargestellten Substanz ¹⁶³⁾ überein.

4b: N-Methyl-pyridin-2-carbonsäureamid (durch Umlagerung von (Z)-2b)

Der gelbe, ölige Rückstand enthält Spuren des Ausgangsoxims (Z)-2b (R_f 0,37 Flm. II) und wenig Keton 1b (R_f 0,85 Flm. II) sowie hauptsächlich das Umlagerungsprodukt 4b (R_f 0,52 Flm. II). Nach Kugelrohrdestillation ($120^\circ\text{C}/0,3$) ist ein dc-einheitliches, farbloses Öl zu erhalten, welches in der Kälte nicht kristallin erstarrt.

Ausbeute: 208 mg (69% d. Th.)

n_D^{20} = 1,5490 ; Sdp.: $110^\circ\text{C}/0,3$

Lit.¹⁶⁴⁾ = 1,5485; Lit.¹⁶⁴⁾ = $128^\circ\text{C}/12$, Lit.¹⁶⁵⁾ = $118-120^\circ\text{C}/4$

IR-Spektrum (CHCl_3): ν/cm^{-1} = 3410 (breit), 3060, 3000, 2880, 2810, 1675 (breit), 1595, 1572, 1540, 1520, 1465 (breit),

164) B. Prijs, R. Gall, R. Hinderling, H. Erlenmeyer, Helv. Chim.Acta 37, 90 (1954)

165) M. Samejima, Yakugaku Zasshi 80, 1706 (1960)

1435, 1415, 1360, 1290, 1240, 1205, 1148, 1110 (breit),
1090, 1045, 1015, 998, 840, 820.

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 136 (M^+ 39), 121 (5),
108 (5), 107 (23), 106 (7), 80 (11), 79 (100), 78 (44), 58
(10), 53 (5), 52 (35), 51 (29), 50 (15).

^1H -NMR-Spektrum (DMSO- d_6): Tab. 10, S. 44

$C_7H_8N_2O$ (136,2) Ber.: C 61,8 H 5,92 N 20,5

Gef.: C 61,6 H 5,87 N 20,4

Das IR-Spektrum von 4b stimmt mit dem IR-Spektrum der durch
unabhängige Synthese dargestellten Substanz ¹⁶⁴⁻¹⁶⁵⁾ überein.

3c: 2-Propionylaminopyridin (durch Umlagerung von (E)-2c)

Der Trockenrückstand besteht aus dem Ausgangsketoxim (E)-2c
(R_f 0,39 Flm. VI) in geringer Menge und dem Umlagerungs-
produkt 3c (R_f 0,58 Flm. VI). Nach SC-Auftrennung (Kiesel-
gel 0,063 - 0,2; Elution mit Petrolether 60-80° C/Chloroform
3+7) wird nur das einheitliche Beckmann-Produkt 3c erhalten.

Ausbeute : 192 mg (64% d. Th.)

Schmp. : 64 - 65° C (Petrolether 60-80° C),

farblose Kristalle

Lit.¹⁶⁶⁾ : 64 - 65° C

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3190 (breit), 3120, 3085, 3030,
2990, 2970, 1695 (breit), 1600, 1575, 1560, 1520, 1470, 1460,
1435 (breit), 1375, 1360 (breit), 1300 (breit), 1200 (breit),
1155, 1147, 1100, 1075, 1045, 997, 952, 920, 893, 840 (breit),
807, 780 (breit), 745.

166) G.F. Dregval, A.P. Martynyuk, Isobret., Prom. Obraztsy,
Tovarnye Znaki 43, 25 (1966), U.S.S.R. 183, 754.
C.A. 66, P. 55400y.

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 151 ($M+17$), 150 (M^+ 29), 121 (8), 95 (9), 94 (100), 78 (16), 67 (29), 66 (7), 57 (18), 51 (7).

$^1\text{H-NMR-Spektrum}$ (DMSO-d_6): Tab. 10, S. 44

$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$ (150,2) Ber.: C 63,9 H 6,71 N 18,6

Gef.: C 63,9 H 6,80 N 18,5

Das IR-Spektrum von 3c stimmt mit dem IR-Spektrum der durch unabhängige Synthese dargestellten Substanz ¹⁶⁶⁾ überein.

4c: N-Ethyl-pyridin-2-carbonsäureamid (durch Umlagerung von (Z)-2c)

Der gelbe, ölige Rückstand enthält Spuren des Ketons 1c (R_f 0,89 Flm. VI) und als Hauptprodukt 4c (R_f 0,59 Flm. VI). Nach Aufreinigen mit Kohle kann durch Kugelrohrdestillation ($125^\circ\text{C}/0,1$) ein fast farbloses Öl erhalten werden, welches in der Kälte nicht kristallin erstarrt.

Ausbeute: 211 mg (70% d. Th.)

$n_D^{20} = 1,5383$; Sdp. $125^\circ\text{C}/0,1$

Lit.¹⁶⁴⁾ = 1.5380; Lit.¹⁶⁴⁾ = $133^\circ/11$, Lit.¹⁶⁵⁾ = $128-129^\circ\text{C}/4$.

IR-Spektrum (CHCl_3): $\nu/\text{cm}^{-1} = 3395$ (breit), 3000 (breit), 2935, 2890, 1670 (breit), 1590, 1570, 1530 (breit), 1465, 1430, 1380, 1365, 1310, 1280, 1240, 1200, 1170, 1158, 1088, 1053 (breit), 1037, 1030, 1010, 1000, 905, 870, 840, 818.

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 150 (M^+ 21), 135 (9), 121 (9), 107 (42), 106 (12), 80 (12), 79 (100), 78 (34), 58 (14), 52 (11), 51 (21).

$^1\text{H-NMR-Spektrum}$ (DMSO-d_6): Tab. 10, S. 44

$C_8H_{10}N_2O$ (150,2) Ber.: C 63,9 H 6,71 N 18,6

Gef.: C 63,9 H 6,79 N 18,4

Das IR-Spektrum von 4c stimmt mit dem IR-Spektrum der durch unabhängige Synthese dargestellten Substanz ¹⁶⁴⁻¹⁶⁵) überein.

3e: 2-(2-Phenylacetyl-amino)-pyridin (durch Umlagerung von (E)-2e)

Der Trockenrückstand enthält neben wenig Ausgangsketoxim (E)-2e (R_f 0,48 Flm. VII) ausschließlich das Umlagerungsprodukt 3e (R_f 0,69 Flm. VII). Die Trennung erfolgt so: neutrales Aluminiumoxid; Elution mit Benzol liefert zuerst einheitlich 3e. Nach dem Abdest. des Lösungsmittels i. Vak. verbleibt ein fast farbloses Öl, welches unter Erwärmen in Petrolether 60-80° C aufgenommen wird und im Kühlschrank weiße Kristallnadeln liefert.

Ausbeute: 177 mg (59% d. Th.)

Schmp. : 120 - 121° C (Petrolether 60-80° C)

Lit.⁵⁸⁾ : 121° C

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3235, 3155, 3130 (breit), 3080, 3050 (breit), 1660 (breit), 1600, 1580, 1540 (breit), 1495, 1460, 1430 (breit), 1340, 1328, 1293, 1240 (breit), 1197, 1160, 1155, 1095, 1052, 1030, 970, 913, 880, 840, 815 (breit), 778, 760, 740, 720.

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 213 (M+1 16), 212 (M⁺ 80), 194 (8), 183 (8), 121 (27), 106 (8), 95 (28), 94 (100), 91 (92), 90 (44), 78 (64), 67 (20), 65 (40), 51 (24).

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): Tab. 10, S. 44

$C_{13}H_{12}N_2O$ (212,3) Ber.: C 73,6 H 5,70 N 13,2

Gef.: C 73,4 H 5,83 N 13,2

Das IR-Spektrum von 3e stimmt mit dem IR-Spektrum der durch unabhängige Synthese dargestellten Substanz ⁵⁸⁾ überein.

4e: N-Benzyl-pyridin-2-carbonsäureamid (durch Umlagerung von (Z)-2e)

Der rötliche Trockenrückstand enthält in geringer Menge das Keton 1e (R_f 0,88 Flm. VII) und das einheitliche Umlagerungsprodukt 4e (R_f 0,61 Flm. VII). Nach Aufreinigung mit Kohle in Aceton und anschließendem Einengen der org. Phase i. Vak. kristallisieren auf Zugabe von Wasser in der Kälte weiße Kristalle aus.

Ausbeute: 203 mg (68% d. Th.)

Schmp. : 86 - 87° C (Hexan)

Lit. ¹⁶⁷⁾: 87° C

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3310 (breit), 3080, 3050, 3030, 3005, 2930, 1660 (breit), 1590, 1570, 1525, 1495, 1468, 1455, 1360, 1330, 1305, 1290, 1253, 1230, 1210, 1170 (breit), 1080, 1044, 1030, 1000, 980 (breit), 920, 903, 820 (breit), 745 (breit), 705.

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 212 (M^+ 27), 170 (9), 168 (7), 107 (13), 106 (85), 91 (16), 79 (56), 78 (100), 67 (8), 65 (9), 52 (13), 51 (11).

^1H -NMR-Spektrum ($DMSO-d_6$): Tab. 10, S. 44

$C_{13}H_{12}N_2O$ (212,3) Ber.: C 73,6 H 5,70 N 13,2

Gef.: C 73,7 H 5,77 N 13,1

Das IR-Spektrum von 4e stimmt mit dem IR-Spektrum der durch unabhängige Synthese dargestellten Substanz ¹⁶⁷⁾ überein.

¹⁶⁷⁾ J.B. Billman, J.L. Rendall, J. Am. Chem. Soc. 66, 540 (1944)

b) Mit Benzolsulfochlorid 53)

Je 300 mg des entsprechenden Ketoxims 2d werden in 15 ml Isopropanol gelöst und mit 350 mg frisch dest. Benzolsulfochlorid sowie 15 ml 10proz. Natronlauge versetzt. Dieser Ansatz wird 1 Std. unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Erkalten wird 100 ml Wasser zugefügt und mit Chloroform erschöpfend extrahiert. Der Chloroformextrakt wird über MgSO_4 getrocknet. Nach dem Abdest. des Lösungsmittels i. Vak. verbleibt ein dc-einheitlicher Rückstand.

3d: 2-(2,2-Dimethylpropionylamino)-pyridin (durch Umlagerung von (E)-2d)

Der Trockenrückstand wird aus Petrolether 60-80° C umkristallisiert.

Ausbeute: 275 mg (92% d. Th.)

Schmp. : 72 - 73° C, farblose Kristalle.

R_f : 0,43 Flm. IV

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3250 (breit), 3070, 2990 (breit), 2880, 1680, 1600, 1580 (breit), 1540, 1510, 1470, 1428 (breit), 1410, 1370, 1303 (breit), 1230, 1160 (breit), 1140, 1100, 1057, 1030, 1000, 925, 904, 810, 780, 750, 710 (breit).

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 179 (M+1 10), 178 (M^+ 34), 163 (9), 136 (9), 135 (11), 122 (14), 121 (20), 94 (48), 93 (100), 85 (9), 78 (26), 67 (29), 57 (88), 51 (10).

$^1\text{H-NMR-Spektrum (DMSO-d}_6 \text{)$: Tab. 10, S. 44

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$ (178,2) Ber.: C 67,4 H 7,86 N 15,7
Gef.: C 67,3 H 7,76 N 15,6

4d: N-2,2-Dimethylpropionyl-pyridin-2-carbonsäureamid
(durch Umlagerung von (Z)-2d)

Der hellgelbe, ölige Rückstand wird einmal der Kugelrohrdestillation (125° C/o,5) unterworfen und liefert ein fast farbloses Öl, welches dc-einheitlich ist.

Ausbeute: 263 mg (88% d. Th.)

n_D^{20} : 1,5125

R_f : 0,50 Flm. IV

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3370 (breit) 3060, 3000 (breit), 2970, 1675 (breit), 1622, 1595, 1572, 1520 (breit), 1480, 1465, 1432, 1404, 1368, 1305, 1290, 1250 (breit), 1210, 1145, 1090, 1043, 990, 965, 882, 822.

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 178 (M^+ 27), 163 (95), 135 (9), 122 (14), 121 (10), 106 (85), 93 (14), 79 (13), 78 (100), 69 (12), 67 (14), 58 (12), 57 (22), 56 (34) 55 (21), 52 (17), 51 (16).

$^1\text{H-NMR-Spektrum}$ (DMSO- d_6): Tab. 10, S. 44

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$ (178,2) Ber.: C 67,4 H 7,86 N 15,7

Gef.: C 67,4 H 7,69 N 15,6

Darstellung von 2-(2,2-Dimethylpropionylamino)-pyridin 3d

940 mg (0,01 mol) 2-Aminopyridin wird mit 1,2 g (0,01 mol) frisch dest. Pivalinsäurechlorid in Gegenwart von 780 mg (0,01 mol) Pyridin 2 Std. bei 35° C unter Feuchtigkeitsausschluß und magnetischem Rühren umgesetzt. Danach wird 50 ml Eiswasser zugefügt, festes Kaliumkarbonat bis zur Neutralisation zugegeben und mit Chloroform erschöpfend extrahiert. Nach dem Abdest. des org. Lösungsmittels i. Vak. verbleibt ein gelbes Öl, welches der Kugelrohrdestillation (130°/0,1) unterworfen wird. Es sublimieren farblose, großflächige Kristalle, die dc-einheitlich sind.

Ausbeute: 855 mg (48% d. Th.)

Schmp. : 72 - 73° C (Methanol/Wasser)

R_f : 0,43 Flm. IV

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): Tab. 10, S. 44

C₁₀H₁₄N₂O (178,2) Ber.: C 67,4 H 5,86 N 15,7

Gef.: C 67,4 H 7,81 N 15,7

Das IR-Spektrum von 3d (dargestellt durch Aminolyse) entsprach dem aus der Beckmann-Umlagerung von (E)-2d hervorgegangenen Produkt 3d.

Darstellung von N-2,2-Dimethylpropionyl-pyridin-2-carbonsäureamid 4d

Picolinsäure wird mit Thionylchlorid zum Säurechlorid umgesetzt (78 % d. Th.) ¹⁶⁸⁾.

¹⁶⁸⁾ E. Graf, B. 61, 2204 (1928); T. Späth, H. Spitzer, B. 59, 1481 (1926)

Zu 1,4 g (0,1 mol) Picolinsäurechlorid in 100 ml Toluol werden langsam 50 ml einer Lösung von frisch dest. t-Butylamin / Toluol (1+9) zugetropft. Danach wird 5 Std. bei 80° C unter Rückflußkühlung und Feuchtigkeitsausschluß erhitzt. Nach dem Abkühlen wird kristallin ausgefallenes t-Butylamin·HCl abfiltriert und das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert. Das als Rückstand verbleibende rotbraune, sirupöse Öl zeigt im DC nur einen Flecken und wird durch dreimalige Kugelrohrdestillation (105° C / 0,03) aufgereinigt. Es resultiert ein farbloses Öl, welches dc-einheitlich ist.

Ausbeute: 605 mg (34% d. Th.)

n_D^{20} : 1,5125

R_f : 0,50 Flm. IV

$^1\text{H-NMR-Spektrum (DMSO-}d_6\text{)}$: Tab. 10, S. 44

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$ (178,2) Ber.: C 67,4 H 7,86 N 15,7

Gef.: C 67,3 H 7,77 N 15,7

Das IR-Spektrum von 4d (dargestellt durch Aminolyse) entsprach dem aus der Beckmann-Umlagerung von (Z)-2d hervorgegangenen Produkt 4d.

c) Mit Thionylchlorid ¹⁸⁾

Je 500 mg der Ketoxime 2f werden analog der Vorschrift ¹⁸⁾ in 20 ml Chloroform gelöst und unter fortwährender Kühlung bei 5° C langsam mit frisch dest. SOCl₂ in geringem Überschuß versetzt. Nach 1 Std. wird die entstehende gelbe Lösung im Vak. vom Lösungsmittel und verbliebenem Thionylchlorid befreit. Aus dem als Rückstand erhältlichen gelben Öl können durch mehrfaches Umkristallisieren farblose Kristalle erhalten werden: 3f aus Ethanol/Wasser bei Raumtemp., 4f unter Erwärmen aus Hexan.

3f: 2-Benzoylaminopyridin ¹⁶⁹⁾ (durch Umlagerung von (E)-2f)

Ausbeute: 176 mg (35% d. Th.)

Schmp. : 83° C (Ethanol/Wasser)

Lit.¹⁶⁹⁾: 82 - 83° C

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3220, 3170 (breit), 3070, 3020, 2950 (breit), 1575 (breit), 1625, 1600, 1580, 1525 (breit), 1435 (breit), 1308 (breit), 1280, 1242, 1178, 1162, 1152, 1125, 1100, 1056, 1022, 998, 990, 928, 897 (breit, 875, 848, 790, 775, 748, 720, 690.

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 198 (M⁺ 69), 170 (73), 169 (72), 121 (12), 106 (38), 105 (100), 93 (67), 79 (42), 78 (96), 67 (10), 51 (92).

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): Tab. 10, S. 44

C₁₂H₁₀N₂O (198,2) Ber.: C 72,7 H 5,10 N 14,1
Gef.: C 72,6 H 5,06 N 14,1

Das IR-Spektrum von 3f stimmt mit dem IR-Spektrum der Vergleichssubstanz ¹⁶⁹⁾ überein.

¹⁶⁹⁾ E. Huntress, H. Walter, J.Org.Chem. 13, 735 (1948)

4f: Pyridin-2-carbonsäureanilid ¹⁷⁰⁾ (durch Umlagerung
von (Z)-2f)

Ausbeute: 311 mg (62% d. Th.)

Schmp. : 75 - 76° C (Hexan)

Lit.¹⁷⁰⁾: 75 - 76° C

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3340 (breit), 3060, 3020,
2930, 1670 (breit), 1600 (breit), 1590, 1570, 1525 (breit),
1468, 1447, 1431, 1332, 1320, 1300, 1278, 1236, 1185, 1162,
1148, 1135, 1090, 1075, 1044, 997, 900, 890, 845, 814, 758
(breit), 745, 705, 690.

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 198 (M^+ 93), 170 (8),
169 (17), 106 (27), 79 (96), 78 (100), 65 (17), 52 (26),
51 (23).

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): Tab. 10, S. 44

C₁₂H₁₀N₂O (198,2) Ber.: C 72,7 H 5,10 N 14,1

Gef.: C 72,7 H 5,01 N 14,0

Das IR-Spektrum von 4f stimmt mit dem IR-Spektrum der Ver-
gleichssubstanz ¹⁷⁰⁻¹⁷¹⁾ überein.

¹⁷⁰⁾ R.F. Coles, R.A. Miller, U.S. 3,149,990 in C.A. 61, P16217g

¹⁷¹⁾ C. Engler, Ber. 27, 1786 (1894)

4. Darstellung der 2-[1-(Hydroxyimino)alkyl]pyridiniumsalze 16

Je 0,005 mol des entsprechenden Ketoxims 2 wird (Methode B) in der erforderlichen Menge absol. Ether gelöst und unter Feuchtigkeitsausschluß sowie Eiskühlung tropfenweise mit 0,006 mol Fluorsulfonsäuremethylester, in 20 ml absol. Ether gelöst, versetzt. Nach 2-stdg. magnetischem Rühren bei 0° C werden die weißen Fällungen abgetrennt und mehrmals mit Ether gewaschen. Die meist hygroskopischen Fluorsulfonate werden in 20 ml Wasser gelöst und über einen mit Jodid-be-ladenen, stark basischen Anionenaustauscher gegeben. Die neutralen, gelben Lösungen der Ketoximjodide 16 werden anschließend i. Vak. zur Trockne gebracht und aus Alkohol/Ether umkristallisiert.

(E)-16b: (E)-2-[1-(Hydroxyimino)ethyl]-1-methyl-pyridiniumiodid

Ausbeute: 1,1 g (76% d. Th.)

Schmp. : 174 - 177° C (Wasser), farblose Kristalle

Lit. ²⁹⁾: 150 - 152° C (Methanol/Ether)

IR-Spektrum (KBr): Tab. 15, S. 71

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): Tab. 17, S. 73

C₈H₁₁N₂O (278,1) Ber.: C 34,5 H 3,95 N 10,1
Gef.: C 34,7 H 3,98 N 10,2

(Z)-16b: (Z)-2-[1-(Hydroxyimino)ethyl]-1-methyl-pyridiniumiodid

Ausbeute: 1,2 g (86% d. Th.)

Schmp. : 202 - 204° C (Aceton/Ether), gelbe Kristalle

Lit. ²⁹⁾: 213 - 214° C (Methanol/Ether)

IR-Spektrum (KBr): Tab. 15, S. 71

^1H -NMR-Spektrum (DMSO- d_6): Tab. 17, S. 73

$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}$ (278,1) Ber.: C 34,5 H 3,95 N 10,1

Gef.: C 34,5 H 3,96 N 10,3

(E)-16c: (E)-2-[1-(Hydroxyimino)propyl]-1-methyl-pyridiniumiodid

Ausbeute: 1,3 g (85% d. Th.)

Schmp. : 169 - 172 $^{\circ}$ C (Aceton/Methylenchlorid),
hellgelbe Kristalle

Lit. ²⁹⁾: 142 - 145 $^{\circ}$ C (Methanol/Ether)

IR-Spektrum (KBr): Tab. 15, S. 71

^1H -NMR-Spektrum (DMSO- d_6): Tab. 17, S. 73

$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}$ (292,1) Ber.: C 37,0 H 4,45 N 9,5

Gef.: C 37,1 H 4,46 N 9,6

(Z)-16c: (Z)-2-[1-(Hydroxyimino)propyl]-1-methyl-pyridiniumiodid

Ausbeute: 1,1 g (78% d. Th.)

Schmp. : 194 - 196 $^{\circ}$ C (Aceton/Methylenchlorid),
gelbe Kristalle

Lit. ²⁹⁾: 198 - 200 $^{\circ}$ C (Methanol/Ether)

IR-Spektrum (KBr): Tab. 15, S. 71

^1H -NMR-Spektrum (DMSO- d_6): Tab. 17, S. 73

$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}$ (292,1) Ber.: C 37,0 H 4,45 N 9,5

Gef.: C 37,2 H 4,58 N 9,5

(E)-16d: (E)-2-[1-(Hydroxyimino)-2,2-dimethylpropyl]-1-methylpyridiniumiodid

Ausbeute: 610 mg (74% d. Th.)*

Schmp. : 177 - 179° C (Ethanol/Ether),

farblose Kristalle

IR-Spektrum (KBr): Tab. 15, S. 71

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): Tab. 17, S. 73

C₁₁H₁₇N₂ (320,1) Ber.: C 41,2 H 5,31 N 8,7

Gef.: C 41,1 H 5,16 N 8,7

* Es wurden nur 0,0025 mol (E)-2d eingesetzt.

(Z)-16d: (Z)-2-[1-(Hydroxyimino)-2,2-dimethylpropyl]-1-methylpyridiniumiodid

Ausbeute: 650 mg (76% d. Th.)*

Schmp. : 204 - 207° C (Ethanol/Ether),

farblose Kristalle

IR-Spektrum (KBr): Tab. 15, S. 71

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): Tab. 17, S. 73

C₁₁H₁₇N₂O (320,1) Ber.: C 41,2 H 5,31 N 8,7

Gef.: C 41,1 H 5,40 N 8,6

* Es wurden nur 0,0025 mol (Z)-2d eingesetzt.

(E)-16e: (E)-2-[1-(Hydroxyimino)-2-α-phenylethyl]-1-methylpyridiniumiodid

Ausbeute: 715 mg (81% d. Th.)*

Schmp. : 143 - 145° C (Isopropanol),

gelbe Kristalle

IR-Spektrum (KBr): Tab. 15, S. 71

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): Tab. 17, S. 73

C₁₄H₁₅N₂N (354,2) Ber.: C 47,5 H 4,24, N 7,9

Gef.: C 47,3 H 4,06 N 8,0

* Es wurden nur 0,0025 mol (E)-2e eingesetzt.

(Z)-16e: (Z)-2- [1-(Hydroxyimino)-2-α-phenylethyl] -1-methyl-
pyridiniumiodid

Ausbeute: 692 mg (78% d. Th.)*

Schmp. : 152 - 154⁰ C (Isopropanol),
hellgelbe Kristalle

IR-Spektrum (KBr): Tab. 15, S. 71

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): Tab. 17, S. 73

C₁₄H₁₅N₂O (354,2) Ber.: C 47,5 H 4,24 N 7,9

Gef.: C 47,5 H 4,10 N 8,0

* Es wurden nur 0,0025 mol (Z)-2e eingesetzt.

(E)-16f: (E)-2- [α-(Hydroxyimino)benzyl] -1-methylpyridiniumiodid

Ausbeute: 1,2 g (70% d. Th.)

Schmp. : 205 - 207⁰ C (Ethanol/Ether),
gelbe Kristalle

Lit. ²⁹⁾: 203 - 205⁰ C (Ethanol)

IR-Spektrum (KBr): Tab. 15, S. 71

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): Tab. 17, S. 73

C₁₃H₁₃N₂O (340,2) Ber.: C 45,9 H 3,82 N 8,2

Gef.: C 46,0 H 3,80 N 8,1

(Z)-16f: (Z)-2 - [α -(Hydroxyimino)benzyl] -1-methylpyridiniumiodid

Ausbeute: 1,4 g (80% d. Th.)

Schmp. : 175 - 176° C (Ethanol/Ether),

farblose Kristalle

Lit. ²⁹⁾: 174 - 176° C (Ethanol)

IR-Spektrum (KBr): Tab. 15, S. 71

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): Tab. 17, S. 73

C₁₃H₁₃N₂O (340,2) Ber.: C 45,9 H 3,82 N 8,2

Gef.: C 45,9 H 3,93 N 8,3

5. Darstellung von (Z)-2-Pyridinaldoximmethojodid 16a
((Z)-2-PAM)

17: C-(2-Pyridyl)-N-methylnitron 70-71)

610 mg (0,005 mol) (Z)-2a werden in 50 ml absol. Ether bei 0° C gelöst und tropfenweise mit 630 mg Fluorsulfonsäuremethylester (gelöst in 20 ml absol. Ether) unter magnetischem Rühren versetzt. Nach 1Std. ist durch DC kein Ausgangsprodukt mehr festzustellen. Die entstandene weiße Fällung wird abgetrennt und ein Teil davon wird aus Ethanol/Petrolether 60-80° C umkristallisiert (= 17 · HFSO₃). Der verbleibende Teil wird in Wasser unter Zusatz von 5proz. Ammoniaklösung gelöst und mit Chloroform erschöpfend extrahiert. Der Chloroformextrakt wird über MgSO₄ getrocknet und anschließend i. Vak. zur Trockne gebracht. Der Trockenrückstand besteht aus einer hygroskopischen, farblosen Kristallmasse, die dc-einheitlich

ist. Nach dem Umkristallisieren aus absol. Ether/Petrol-
ether 60-80⁰ C resultieren weiße Kristallnadeln, die
über PCl_5 i.d. Trockenpistole aufbewahrt werden müssen.

Ausbeute: 360 mg (53% d. Th.)

Schmp. : 60 - 62⁰ C

Lit. ⁷¹⁾: 61,5 - 62,5⁰ C

R_f : 0,24 (Flm. II)

IR-Spektrum (KBr): $\nu/\text{cm}^{-1} = 1615$ ($\text{N}=\text{O}$ -Nitron)

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): $\delta/\text{ppm} = 8,95$ dd (H-3; $J_{3,4} = 8$ Hz); 8,61 dd (H-6; $J_{5,6} = 6$ Hz); 7,91 s ($\alpha\text{-CH}=\text{N}$); 7,84 dt (H-4); 7,35 dt (H-5); 3,85 s (N-CH_3).

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 136 (M^+ 48), 120 (9), 119 (100), 108 (5), 107 (7), 93 (9), 92 (86), 79 (13), 78 (59), 65 (23), 64 (12), 63 (14), 52 (17), 51

$\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_2\text{O}$ (136,1) Ber.: C 61,7 H 5,88 N 20,6

Gef.: C 61,7 H 5,79 N 20,5

17·HFSO₃:

Schmp.: 155 - 157⁰ C (Ethanol/Petrolether 60-80⁰ C)

farblose Kristalle

IR-Spektrum (KBr): $\nu/\text{cm}^{-1} = 1620$ ($\text{N}=\text{O}$ -Nitron)

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): $\delta/\text{ppm} = 10,27$ s (N^+-H); 8,78 dd (H-6; $J_{5,6} = 6$ Hz); 8,54 dt (H-4); 8,48 s ($\alpha\text{-CH}=\text{N}$); 8,24 dd (H-3; $J_{3,4} = 9$ Hz); 8,00 dt (H-5); 4,02 s (N-CH_3).

$\text{C}_7\text{H}_9\text{FN}_2\text{O}_4\text{S}$ (236,1) Ber.: C 35,6 H 3,81 N 11,9

Gef.: C 35,4 H 3,84 N 11,9

17·HC10₄:

Schmp.: 188 - 190⁰ C (Aceton/Ether)

farblose Kristalle

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3110, 3070, 3020, 2980
1618, 1590, 1510, 1457, 1420, 1305, 1260, 1165-1070,
950, 928, 858, 775, 732.

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): δ/ppm = 11,34 s (N₊-H);
8,79 dd (H-6; J_{5,6} = 6 Hz); 8,53 dt (H-4); 8,49 s (α -CH=N);
8,24 dd (H-3; J_{3,4} = 9 Hz); 7,97 dt (H-5); 4,01 s (N-CH₃).

C₇H₉ClN₂O₅ (236,5) Ber.: C 35,5 H 3,81 N 11,8
Gef.: C 35,5 H 3,59 N 11,6

17·C₆H₃N₃O₇:

Schmp.: 147 - 148⁰ C (Aceton/Petrolether 40-60⁰ C)

gelbe Kristalle

Lit.⁷¹⁾: 147 - 148⁰ C

C₁₃H₁₁N₅O₈ (264,1) Ber.: C 31,8 H 3,41 N 10,6
Gef.: C 31,7 H 3,40 N 10,6

18: (E)-2-Pyridinaldoxim-methyl-ether

Die Darstellung erfolgte analog den Literaturangaben ⁶⁶⁾.

Sdp. : 110⁰ C

Lit. ⁶⁶⁾: 108 - 110⁰ C

R_f : 0,78 (Flm. III)

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): Tab. 11, S. 51

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 136 (M^+ 25),
106 (14), 79 (100), 78 (62), 64 (6), 52 (21), 51 (28),
50 (15).

$C_7H_8N_2O$ (136,1) Ber.: C 61,7 H 5,88 N 20,6
Gef.: C 61,6 H 5,84 N 20,6

18·HClO₄:

Schmp. 116° C (Ethanol/Ether),
farblose Kristalle,

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3235, 3110 (breit), 3030,
3000, 2980, 2910, 2810, 2640-2500, 1630, 1620, 1585,
1530 (breit), 1455, 1405, 1350, 1310, 1240, 1230, 1150-
-1050, 990, 945 (breit), 880, 860, 760, 780 (breit).

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): δ/ppm = 13,12 s ($N-H$);
8,83 dd (H-6); 8,69 dt (H-4); 8,40 s ($\alpha-CH=N$); 8,13 dd
(H-6); 7,92 dt (H-5); 4,08 s (O-CH₃).

(Z)-16a: (Z)-2-(Hydroxyiminomethyl)-1-methyl-pyridiniumiodid
= (Z)-2-PAM

0,025 mol (E)-2a werden in 500 ml Wasser unter leichtem
Erwärmen gelöst und die klare, farblose Lösung wird dann
in einer Bestrahlungsapparatur Q 150 (Fa. Hanau, Brenn-
stab: Hg-Niederdruckbrenner TNN 15/32) unter fortwähren-
der Umwälzung kontinuierlich 100 Std. bestrahlt. Die ent-
stehende, braungelb gefärbte Lösung wird dann i. Vak.
zur Trockne gebracht. Der Trockenrückstand (Tab. 12, S. 58)
wird gerade eben in Ethanol bei Raumtemperatur gelöst und
bei -10° der Kristallisation überlassen. Von den ent-

stehenden Kristallen, die hauptsächlich nach NMR-Analyse aus (E)-16a bestehen, wird abdekantiert; anschließend wird das Filtrat bei 30° C geringfügig i. Vak. eingeeengt und erneut der Kristallisation bei -10° C überlassen. Danach wird erneut von dem auskristallisierten Produkt abgetrennt und das Filtrat noch einmal wie oben behandelt. Die letztlich verbleibende Mutterlauge wird bei Raumtemperatur i. Vak. zur Trockne gebracht. Dieser Trockenrückstand enthält nunmehr nach NMR-Analyse 70% (Z)-16a neben (E)-16a und geringen Mengen des Dehydratisationsproduktes 21. Der Trockenrückstand wird mit 10 ml Acetonitril in einer Reibschale kalt verrieben; anschließend wird das abdekantierte Acetonitril verworfen, während die zurückbleibenden Kristalle bei 30° C in 200 ml Acetonitril gelöst werden. Hierauf werden 500 ml Methylenchlorid hinzugefügt und mit 50 ml Petrolether 60-80° C wird angefällt. Nach dem Absetzen der Fällung wird der trübe Überstand vorsichtig abdekantiert und verworfen. Der Bodensatz wird noch zweimal mit CH₂Cl₂ aufgenommen, mit wenig Petrolether 60-80° C angefällt und der Überstand von der jeweils absitzenden Fällung abdekantiert. Die letzte Fällung wird dann unverzüglich auf einer Fritte gesammelt und i. Vak. bei Raumtemperatur getrocknet.

Ausbeute: 460 mg (55% d. Th.)

Schmp. : 202 - 205° C, ab 180° C dunkel;
hellgelbe Kristalle.

Lit.¹⁷¹⁾: 223 - 229° C (Ethanol/absol. Ether)

171) I.N. Somin, N.J. Shapranova, A.G. Ivanenko,
T.N. Gavrilova, Khim. Geterotsikl. Soedin 2, 273 (1980)

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3040 (breit), 2970 (breit), 1620, 1610, 1578, 1505, 1455, 1440, 1395, 1345 (breit), 1310, 1290, 1218, 1180, 1170, 1005, 950 (breit), 900, 853, 810, 780 (breit), 750, 707.

^1H -NMR-Spektrum (DMSO- d_6): Tab. 17, S. 73

UV-Spektrum: (λ_{max} ; nm): Tab. 13, S. 64; Tab. 14, S. 65.

$\text{C}_7\text{H}_9\text{N}_2\text{O}$ (264,1) Ber.: C 31,8 H 3,41 N 10,6

Gef.: C 31,8 H 3,38 N 10,6

(E)-19: (E)-4-Pyridinaldoxim

Schmp.: 132 - 133° C (Petrolether 40-60° C)

Lit.¹³⁾: 132 - 133° C

R_f : 0,42 (Flm. VI)

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3160, 3050, 2950, 2850, 1605 (breit), 1567, 1515 (breit), 1505, 1485, 1420, 1405, 1330, 1310, 1240, 1220, 1208, 1095, 1068, 1010, 980 (breit), 935, 875 (breit), 830, 820, 738.

^1H -NMR-Spektrum (DMSO- d_6): δ/ppm = 11,85 s (NOH); 8,52 dd (H-2;H-5; $J_{2,3}$ = 6 Hz); 8,20 s ($\alpha\text{-CH=N}$); 7,61 dd (H-3;H-4; $J_{4,5}$ = 6 Hz)

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 122 (M^+ 100); 105 (22), 104 (51), 92 (35), 79 (25), 78 (62), 65 (15), 52 (34), 51 (18).

$\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ (122,1) Ber.: C 59,0 H 4,96 N 22,9

Gef.: C 58,8 H 4,94 N 22,8

(Z)-19: (Z)-4-Pyridinaldoxim

Die Darstellung erfolgte analog der Lit.¹³⁾ durch Photoisomerisation von (E)-19 und anschließendes Umkristallisieren aus Wasser.

Schmp. : 168 - 169⁰ C (Wasser), farbl. Kristalle

Lit. ¹³⁾ : 169 - 171⁰ C

R_f : 0,49 (Flm. VI)

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3140, 3060, 3000, 2850, 1642, 1605 (breit), 1555 (breit), 1495, 1420 (breit), 1367, 1325, 1240 (breit), 1222, 1190, 1100, 1070, 1015, 988, 970, 945 (breit), 903, 885, 860, 820, 750.

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): δ/ppm = 12,22 s (NOH); 8,69 dd (H-2;H-5;J_{2,3} = 6 Hz); 7,85 dd (H-3;H-4;J_{4,5} = 6 Hz); 7,53 s ($\alpha\text{-CH=N}$).

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 122 (M⁺ 100), 121 (12) 105 (10), 104 (31), 92 (28), 79 (48), 78 (44), 66 (10), 65 (56), 52 (18), 51 (12).

C₆H₆N₂O (122,1) Ber.: C 59,0 H 4,96 N 22,9

Gef.: C 59,2 H 4,85 N 22,8

6. Darstellung der Oximester 25

a) Darstellung des Ketoximesters 25b

0,05 mol des Ketoxims (E)-2b werden in 50 ml Wasser unter leichtem Erwärmen gelöst. Dann wird unter magnetischem Rühren tropfenweise mit 10 ml frisch dest. Benzoylchlorid versetzt. Dabei wird durch Zutropfen von 5 N KOH der Ansatz kontinuierlich im schwach alk. Milieu gehalten. Nach kurzer Zeit beginnt der Ester 25b auszufallen und sich an der

Wasseroberfläche abzuscheiden. Wenn DC kein Ausgangs-oxim mehr festgestellt werden kann, wird noch 10 Min. weitergerührt und danach die Fällung abgetrennt. Das erhaltene Rohprodukt wird mehrmals mit Wasser gewaschen. Anschließend wird in wenig Aceton aufgenommen und durch Zugabe von Petrolether 40-60° C bis zur ersten Trübung der farblosen Lösung angefällt. Dann wird im Kühlschrank der Kristallisation überlassen.

25b: (E)-2-[1-(Benzoyloxyimino)ethyl]pyridin

Ausbeute: 10,4 g (87% d. Th.)

Schmp. : 108 - 110° C (Petrolether 60-80° C)

R_f : 0,66 (Flm. II)

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 30,60, 1748 (breit), 1600, 1580, 1560, 1470, 1450, 1433, 1365, 1325, 1245 (breit), 1175, 1155, 1115, 1080, 1060, 1025, 995, 925, 870, 790, 782, 778, 745, 705.

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): δ/ppm = 8,73 dd (H-6); 8,1 m (H-4; 3 aromat. H, Phenyl); 7,6 m (H-3; H-5; 2 aromat. H, Phenyl); 2,59 s (3H, CH₃).

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 240 (M⁺ 17), 225 (8), 121 (18), 105 (100), 104 (52), 78 (39), 77 (35), 76 (28), 52 (18), 51 (29), 50 (10).

C₁₄H₁₂N₂O₂ (240,1) Ber.: C 70,0 H 5,00 N 11,7

Gef.: C 69,9 H 4,95 N 11,7

b) Darstellung der Aldoximester 25a und 25c

0,05 mol des jeweiligen Aldoxims werden mit 0,05 mol frisch dest. Benzoylchlorid in 50 ml absol. Ether in Gegenwart von Triethylamin unter magnetischem Rühren und Erhitzen am Rückfluß umgesetzt. Danach wird vom ausgefallenen Triethylammoniumsalz abgetrennt; durch Zugabe von Petrolether 60-80° C zur Etherphase wird restliches Katalysatorsalz ausgefällt und ebenfalls abgetrennt. Anschließend wird mit Wasser mehrmals gewaschen und das Waschwasser verworfen. Die farblose Etherphase wird über $MgSO_4$ getrocknet und danach i.V. zur Trockne eingengt. Der dc-einheitliche Trockenrückstand wird aus siedendem Petrolether 60-80° C umkristallisiert. Die Ausbeuten sind fast quantitativ.

25a: (E)-2-(Benzoyloxyiminomethyl)pyridin

Ausbeute: 9,9 g (88% d. Th.)

Schmp. : 113 - 114° C (Petrolether 60-80° C)

R_f : 0,48 (Flm. I)

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3065, 3000, 1765 (breit), 1600, 1585, 1570, 1492, 1470, 1435, 1332, 1320, 1260 (breit), 1245, 1215, 1180, 1167, 1080, 1060 (breit), 1030, 994, 960, 930, 885, 830, 800, 795, 745, 700.

^1H -NMR-Spektrum (DMSO- d_6): δ/ppm = 8,87 s ($\alpha-CH=N$); 8,76 dd (H-6); 8,05 m (H-4; 3 arom. H, Phenyl); 7,65 m (H-3; H-5; 2 arom. H, Phenyl).

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 226 (M^+ 9), 196 (6), 122 (11), 106 (9), 105 (100), 104 (11), 78 (29), 77 (54), 76 (10), 52 (11), 51 (46), 50 (10).

$C_{13}H_{10}N_2O_2$ (226,1) Ber.: C 69,0 H 4,42 N 12,4
Gef.: C 69,0 H 4,47 N 12,4

25c: (E)-4-(Benzoyloxyiminomethyl)pyridin

Ausbeute: 9,6 g (85% d. Th.)

Schmp. : 147 - 148° C (Petrolether 60-80° C)

R_f : 0,58 (Flm. VI)

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 30,45, 3025, 1735 (breit), 1600, 1550, 1450, 1410, 1350, 1328, 1255 (breit), 1230, 1192, 1097, 1082, 1060 (breit), 1028, 990, 983, 925 (breit), 875, 815, 710 (breit).

^1H -NMR-Spektrum (DMSO- d_6): δ/ppm = 8,99 s ($\alpha-CH=N$); 8,78 dd (H-2; H-6; $J_{2,3} = 6$ Hz); 8,10 dd (H-3; H-5; $J_{5,6} = 6$ Hz); 7,7 m (5 aromat. H, Phenyl).

Massenspektrum: m/e (rel. Int. %) = 226 (M^+ 6), 122 (10), 106 (8), 105 (100), 104 (28), 93 (5), 78 (9), 77 (63), 76 (25), 75 (13), 74 (10), 66 (13), 64 (19), 63 (26), 52 (19), 51 (55).

$C_{13}H_{10}N_2O_2$ (226,1) Ber.: C 69,0 H 4,42 N 12,4
Gef.: C 69,5 H 4,46 N 12,4

7. Darstellung der quartären Oximester 26

a) Darstellung des quartären Ketoximesters 26b

0,01 mol (2,4 g) des Oximesters 25b werden in 50 ml frisch dest. Nitromethan mit 0,05 mol (7,1 g) Methyljodid unter Erhitzen am Rückfluß, magnetischem Rühren und Feuchtigkeitsausschluß umgesetzt. Nach 2 Std. ist in der intensiv gelb gefärbten Lösung nach DC nur noch wenig Ausgangsprodukt 25b festzustellen; die Wärmequelle wird abgeschaltet. Nach dem Abkühlen der Lösung auf Raumtemperatur wird i. Vak. eingeengt und der gelbe, amorphe Trockenrückstand wird mit Wasser aufgenommen. Anschließend wird die wäßrige Phase mehrmals mit Ether extrahiert; die Etherextrakte enthalten restliches Ausgangsoxim und werden verworfen. Die Wasserphase wird i. Vak. zur Trockne gebracht. Der kristalline Trockenrückstand kann in Chloroform gelöst werden und nach Zusatz von wenig Ether kristallisieren in der Kälte gelbe Kristalle aus.

26b: (E)-2-[1-(Benzoyloxyimino)ethyl]-1-methyl-pyridiniumiodid

Ausbeute: 3,3 g (86% d. Th.)

Schmp. : 174 - 175⁰ C, gelbe Kristalle

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3070, 3045, 1746 (breit), 1635, 1615, 1600, 1573, 1515, 1450, 1365, 1325 (breit), 1300, 1240 (breit), 1180, 1150, 1106, 1078, 1045, 1025, 1008, 988, 935, 875, 785, 740, 705.

¹H-NMR-Spektrum (DMSO-d₆): δ/ppm = 9,20 dd (H-6); 8,79 dt (H-4); 8,2 m (H-3; 3 arom. H, Phenyl); 7,7 m (H-5; 2 arom. H, Phenyl); 4,39 s (N-CH_3); 2,68 s (CH_3).

$C_{15}H_{15}N_2O_2$ (382,2) Ber.: C 47,1 H 3,93 N 7,3

Gef.: C 47,0 H 3,97 N 7,1

b) Darstellung der quartären Aldoximester 26a und 26c

0,01 mol (2,3 g) des jeweiligen Aldoximesters 25 werden jeweils in 100 absol. Toluol gelöst und unter magnetischem Rühren tropfenweise mit einer Lösung von 0,01 mol (1,2 g) Fluorsulfonsäuremethylester in 50 ml absol. Toluol versetzt und 1 Std. bei Raumtemperatur gerührt. Die entstehende Fällung wird abgetrennt, in 40° C warmen Wasser aufgenommen und mehrfach mit Ether gewaschen, bis kein unumgesetztes Ausgangsaldoxim im Waschether mehr nachzuweisen ist. Danach wird die Wasserphase i. Vak. bis zur gerade beginnenden Kristallisation i. Vak. eingeengt und über Nacht im Kühlfach der vollständigen Kristallisation überlassen. Die ausgefallenen weißen Kristalle werden auf einer Fritte gesammelt und noch einmal mit eiskaltem Wasser gewaschen.

26a: (E)-2-(Benzoyloxyiminomethyl)-1-methyl-pyridinium-fluorsulfonat

Ausbeute: 2,9 g (86% d. Th.)

Schmp. : 158 - 161° C, Zers.; farblose Kristalle

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3090, 3070, 3040, 1750 (breit), 1635, 1600, 1585, 1515, 1450, 1350, 1290 (breit), 1240 (breit), 1190, 1170, 1070, 1050, 1030, 952 (breit), 900, 830, 803, 782, 710 (breit).

$^1\text{H-NMR-Spektrum (DMSO-d}_6\text{)}$: $\delta/\text{ppm} = 9,54 \text{ s (}\alpha\text{-CH=N)}$; 9,16 dd (H-6); 8,62 dt (H-4); 8,2 m (H-5; H-3); 7,96 dt (2 aromat. H, Phenyl); 7,7 m (3 aromat. H, Phenyl); 4,50 s (N-CH_3).

$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{O}_5\text{S}$ (340,3) Ber.: C 49,4 H 3,82 N 8,2
Gef.: C 49,4 H 3,80 N 8,3

26c: (E)-4-(Benzoyloxyiminomethyl)-1-methyl-pyridinium-fluorsulfonat

Ausbeute: 3,1 g (91% d. Th.)

Schmp. : 166 - 167° C, Zers., farblose Kristalle

IR-Spektrum (KBr): $\nu/\text{cm}^{-1} = 3065, 3040, 3015, 1755$ (breit), 1647, 1603, 1585, 1568, 1525, 1470, 1450, 1355, 1285 (breit), 1250 (breit), 1187, 1155, 1082, 1060 (breit), 1020, 975, 940 (breit), 893 (breit), 844, 809, 775, 730 (breit), 710 (breit).

$^1\text{H-NMR-Spektrum (CD}_3\text{CN)}$: $\delta/\text{ppm} = 8,92 \text{ s (}\alpha\text{-CH=N)}$; 8,74 dd (H-2; H-6; $J_{2,3} = 7 \text{ Hz}$); 8,31 dd (H-3; H-5; $J_{5,6} = 7 \text{ Hz}$); 8,15 dt (2 aromat. H; H-2 (Phenyl), H-6 (Phenyl); $J_{2',3'} = 8 \text{ Hz}$); 7,7 m (3 aromat. H, Phenyl); 4,35 s (N-CH_3).

$^1\text{H-NMR-Spektrum (DMSO-d}_6\text{)}$: $\delta/\text{ppm} = 9,19 \text{ s (}\alpha\text{-CH=N)}$; 9,09 dd (H-2; H-6; $J_{2,3} = 7 \text{ Hz}$); 8,43 dd (H-3; H-5; $J_{5,6} = 7 \text{ Hz}$); 8,12 dt (2 aromat. H, Phenyl); 7,7 m (3 aromat. H, Phenyl); 4,41 s (N-CH_3).

$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{O}_5\text{S}$ (340,3) Ber.: C 49,4 H 3,82 N 8,2
Gef.: C 49,5 H 3,94 N 8,2

c) Darstellung der Jodide von 26a und 26c aus den Fluor-sulfonaten von 26a und 26c

500 mg der Fluorsulfonate von 26a und 26c werden in soviel Wasser von 50° C gelöst, wie eben nötig ist. Hierzu werden 2 ml einer bei Raumtemperatur gesättigten, wäßrigen Kaliumjodidlösung getropft. Die entstehende gelbe, mikrokristalline Fällung wird sofort abgesaugt und mehrmals mit wenig Eiswasser gewaschen. Nach dem Trocknen i. Vak. über P₂O₅ verbleibt in beiden Fällen ein gelbes Kristallpulver.

26a: (E)-2-(Benzoyloxyiminomethyl)-1-methyl-pyridiniumiodid

Ausbeute: 276 mg (51 % d. Th.)

Schmp. : 150 - 152° C, gelbe Kristalle

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 2980 (breit), 2900, 1730 (breit), 1615 (breit), 1510, 1465, 1425, 1410, 1380, 1365, 1345, 1335, 1310, 1272, 1250, 1195, 1135 (breit), 1110, 1085, 1075, 1038, 988, 938, 920, 872, 828, 785, 755, 715.

C₁₄H₁₃N₂O₂ (368,1) Ber.: C 45,7 H 3,53 N 7,6

Gef.: C 45,9 H 3,70 N 7,7

26c: (E)-4-(Benzoyloxyiminomethyl)-1-methyl-pyridiniumiodid

Ausbeute: 325 mg (60% d. Th.)

Schmp. : 159 - 160° C, gelbe Kristalle

IR-Spektrum (KBr): ν/cm^{-1} = 3080, 3035, 3000, 1750 (breit) 1642, 1603, 1583, 1568, 1520, 1465, 1350, 1330, 1318, 1290, 1262, 1248, 1237, 1210, 1187, 1153, 1100, 1082, 1060 (breit), 1030, 970, 940 (breit), 893 (breit), 844, 825, 707, 775,

715 (breit).

^1H -NMR-Spektrum (DMSO- d_6): $\delta/\text{ppm} = 9,20 \text{ s (} \alpha\text{-CH=N)}$;
9,12 dd (H-2; H-6); 8,42 dd (H-3; H-5) 8,10 dt (2
aromat. H, Phenyl); 7,7 m (3 aromat. H, Phenyl); 4,42
s (N-CH_3).

$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_2$ (368,1) Ber.: C 45,7 H 3,53 N 7,6

Gef.: C 45,8 H 3,66 N 7,4

8. Stabilitätsuntersuchungen von 26

Analytik zum Zerfall von (E)-26b:

200 mg des Pyridinium-Ketoxim-Esters (E)-26b werden in jeweils 100,00 ml Pufferlösung pH 10,00 (Merck No. 9442) bzw. 100,00 ml 0,1-N-NaOH gelöst. Von jeder der beiden Lösungen wird 0,50 ml abpipettiert und jeweils in einem 100 ml Meßkolben mit Pufferlösung pH 10,00 bzw. 0,1-N-NaOH aufgefüllt. Diese beiden Verdünnungen dienen zur Erstellung der UV-Spektren nach 5 und 30 Min. (Abb. 11 und 12).

Die beiden verbleibenden Stammlösungen werden nach 30 Min. und Stehenlassen bei Raumtemperatur tropfenweise mit 10proz. H_2SO_4 auf pH 1 gebracht und anschließend mit Ether erschöpfend extrahiert. Die Etherphasen aus jeweils ein und derselben Stammlösung werden vereinigt, einmal mit Wasser neutral gewaschen und anschließend über $MgSO_4$ getrocknet. Danach wird i. Vak. das Lösungsmittel bei Raumtemperatur entfernt. Die verbleibenden Trockenrückstände werden in 90proz. Ethanol aufgenommen und nach der Vorschrift des DAB 7* titriert.

Pufferlösung pH 10,00: Verbrauch 0,1-N-NaOH = 5,02 ml

dies entspricht 61,29 mg Benzoesäure (96,5% d. Th., n. 30')

0,1-N-NaOH (pH 13,0): Verbrauch 0,1-N-NaOH = 5,12 ml

dies entspricht 62,52 mg Benzoesäure (98,4% d. Th., n. 30')

* Deutsches Arzneibuch, 7. Ausgabe 1968, S. 551 (Kommentar)

Analytik zum Zerfall von (E)-26a:

200,00 mg des 2-Pyridinium-Aldoxim-Esters (E)-26a (Anion: Fluorsulfonat) werden jeweils in 100,00 ml Pufferlösung pH 7,40 (Merck No. 9472) und pH 9,00 (Merck No. 9441) bei Raumtemperatur gelöst. Von jeder der beiden Lösungen wird 0,50 ml abpipettiert und jeweils in einen 100 ml Meßkolben gegeben. Dann wird mit Pufferlösung pH 7,40 bzw. pH 9,00 aufgefüllt. Diese beiden Verdünnungen dienen zur Erstellung der UV-Spektren nach 15 und 30 Min. (Abb. 15 u. 16). Die beiden verbleibenden Stammlösungen werden nach 30 Min. und Stehenlassen bei Raumtemperatur tropfenweise mit 10proz. Ammoniak-Lösung auf pH 10 gebracht und anschließend jeweils dreimal mit Chloroform erschöpfend extrahiert, bis kein 2-Pyridon 24 mehr in der wäßrigen Phase dc ($R_f=0,85$; Flm.I) nachzuweisen ist.

Die Chloroformextrakte aus dem Ansatz mit Pufferlösung pH 7,40 wie auch aus dem Ansatz mit Pufferlösung pH 9,00 werden i. Vak. eingeeengt und anschließend mit wenig absol. Ether aufgenommen. Nach Zugabe von Perchlorsäure-gesättigtem Ether bis zur ersten Trübung kristallisieren in der Kälte quantitativ farblose Kristalle des 1-Methyl-2-pyridon-perchlorats aus.

Die beiden wäßrigen Phasen werden, jede für sich, mit 10proz. H_2SO_4 auf pH 1 eingestellt und weiter wie bei 26b angegeben behandelt.

Pufferlösung pH 7,40: 24 als Perchlorat ausgewogen = 115,0 mg
(93,8% d. Th.)

Verbrauch 0,1-N-NaOH = 5,68 ml;

dies entspricht 69,35 mg Benzoesäure (97,1% d. Th.)

Pufferlösung pH 9,00: 24 als Perchlorat ausgewogen = 116,0 mg
(95,0% d. Th.)

Verbrauch 0,1-N-NaOH = 5,56 ml;
dies entspricht 67,89 mg Benzoesäure (95,1% d. Th.)

Analytik zum Zerfall von (E)-26c:

200,00 mg des 4-Pyridinium-Aldoxim-Esters (E)-26c (Anion: Fluorsulfonat) werden in jeweils 100,00 ml Pufferlösung pH 7,40, pH 8,00 (Merck No. 9440) und pH 9,00 bei Raumtemperatur gelöst. Von jeder der drei Lösungen werden 0,50 ml abpipettiert und jeweils in einen 100 ml Meßkolben gegeben. Dann wird mit Pufferlösung pH 7,40, 8,00 bzw. 9,00 aufgefüllt. Diese drei Verdünnungen dienen zur Erstellung der UV-Spektren nach 30 Min. bzw. 4 Std. (Abb. 19 u. 20). Nach 4 Std. wird in die UV-Meßansätze 1g NaOH in fester Form gegeben und die nunmehr alkalischen Meßansätze werden erneut nach 10 Min. UV-vermessen (Abb. 21).

Die drei Stammlösungen werden nach 4stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur aufgearbeitet wie bei 26b angegeben. Danach werden die wäßrigen, Ether-extrahierten Phasen mit 25proz. Natronlauge alkalisch (pH>12) gemacht und nach 10 Min. erneut mit Schwefelsäure auf pH 1 gebracht. Anschließend wird in der beschriebenen Art und Weise (S. 163) Benzoesäure extrahiert und anschließend titriert.

Des weiteren werden 200,00 mg (E)-26c (Anion: Fluorsulfonat) in 100,00 ml 0,1-N-NaOH gelöst. Hiervon werden ebenfalls 0,50 ml in einen 100 ml Meßkolben pipettiert und mit 0,1-N-NaOH aufgefüllt. Mit dieser Verdünnung werden auch nach 30 Min. und nach 4 Std. UV-Spektren aufgenommen.

Aus der Stammlösung (pH 13) wird wie beschrieben (S. 163) nach 4 Std. Benzoesäure isoliert und anschließend nach der Vorschrift des DAB 7 titriert. Die Ergebnisse sowohl aus den quantitativen Auswertungen der UV-Spektren unter Verwendung einer Eichgeraden (0,25 mg entsprechen dabei einer Extinktion von $E=0,345$) des Oximatanions 31 wie auch die Ergebnisse der 1. und 2. Benzoesäuretitration sind in Tabelle 20 (S. 96) wiedergegeben.

9. Bestimmung der pharmakologischen Wirksamkeit von 16

Geräte der Meßanordnung:

Eppendorf Digitalphotometer 6115 mit Küvettenwechselautomat 2705, Drucker 6522 und Rechner CKE 6454. Heidolph-Rührwerk RZR 1, oberhalb der Küvettenwechselschiene angeordnet. Teflon Rührkerne von 2-3 mm Länge, innerhalb der Küvetten. Messungen erfolgten automatisch alle 30 sec.; nach jeweils 2 Min. wurde durch den Drucker ein ΔE -Wert von 4 Messungen ausgedruckt. Um ein Absetzen der Enzympartikel während der Messung zu vermeiden, muß mittels Magnetrührer über dem Photometer kontinuierlich gerührt werden.

Reagenzlösung nach ELLMAN ¹⁶¹):

39,5 mg 5,5'-DTNB (= Dithiobisnitrobenzoesäre) und 15,0 mg NaHCO_3 werden bei Raumtemperatur in 10,0 ml 0,1 M Na-Phosphat-Pufferlösung (pH 7,4) gelöst.

Substratlösung:

$3 \cdot 10^{-3}$ Mol Acetylthiocholin werden in 10,0 ml 0,1 M Na-Phosphat-Pufferlösung (pH 7,4) bei Raumtemperatur gelöst.

Lösungen der Testsubstanzen:

$4,8 \cdot 10^{-2}$ Mol des jeweiligen Pyridiniumoximsalzes werden in 10,00 ml 0,1 M Na-Phosphat-Pufferlösung (pH 7,4) bei Raumtemperatur gelöst. Von dieser Stammlösung, die im Meßansatz eine Konzentration von $2 \cdot 10^{-3}$ M besitzt, werden Verdünnungen hergestellt, die dann in den einzelnen Meßansätzen Konzentrationen von $5 \cdot 10^{-4}$, $2 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-4}$, $2 \cdot 10^{-5}$ und $1 \cdot 10^{-5}$ M besitzen (Inhalt der Meßküvette = Vol. d. Meßansatzes = 1,2 ml).

Hemmstofflösung:

$1 \cdot 10^{-2}$ Mol Paraoxon werden in 100,00 ml Ethanol gelöst und anschließend mit Aqua bidest. auf $1 \cdot 10^{-6}$ M verdünnt.

Inkubationslösung (gehemmte Enzymlösung):

Zweimal ^{*)} je 0,10 ml einer wäßrigen Suspension von trägergebundener AChE (hergestellt nach MENZEL ¹⁶⁰) aus Electrophorus electricus werden jeweils mit 0,30 ml 0,5 M Na-Phosphat-Pufferlösung (pH 7,4), 1,10 ml Aqua bidest. sowie 1,50 ml der $1 \cdot 10^{-6}$ M Hemmstofflösung in je einem 10 ml Zentrifugenglas versetzt. Dann wird 30 Min. bei Raumtemperatur inkubiert, wobei durch magnetisches Rühren der Ansatz in gleichmäßiger Suspension gehalten wird. Dann wird 10 Min. bei 4⁰ C und 6000 U/Min. scharf abzentrifugiert. Anschließend wird der partikelfreie, wäßrige Überstand vorsichtig abdekantiert und verworfen. Der weiße Bodenkörper wird mit 3,0 ml 0,5 M Na-Phosphat-Pufferlösung gewaschen und dann wird erneut identisch zentrifugiert und vom Überstand dekantiert. Der feuchte Bodenkörper wird in 3,0 ml 0,1 M Na-Phosphat-Pufferlösung suspendiert und bei 20⁰ C im Wasserbad aufbewahrt.

Ungehemmte Enzymlösung (trägergebundene AChE):

Es wird wie unter "Inkubationslösung" beschrieben verfahren, mit Ausnahme der Zugabe von 1,50 ml Hemmstofflösung. An deren Stelle werden jeweils 1,50 ml Aqua bidest. den beiden Ansätzen zugegeben *).

*) ANMERKUNG:
=====

Die trägergebundene AChE-Suspension nach MENZEL ¹⁶⁰⁾ enthält ungefähr 7 U/ml. Im Meßansatz der ungehemmten Enzymlösung beträgt die Enzymaktivität durchschnittlich 210-230 mU/ml. In den Inkubationsansätzen beträgt die Restaktivität im Durchschnitt weniger als 15 mU/ml.

Es werden deshalb immer zwei Inkubationsansätze als auch zwei Blindwerte bereitet, um einen Fehler durch die Zentrifugation weitgehend auszuschließen.

Alle Inkubationsansätze als auch Blindwerte werden nur innerhalb von 10 Std. für Meßreihen verwandt. In diesem Zeitraum beträgt der Fehler durch Autohydrolyse in den Inkubationsansätzen weniger als 5%, der Aktivitätsverlust der Blindwerte beträgt weniger als 2% relativen Fehlers.

Messgenauigkeit des Verfahrens:

Zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit wurden 2 Meßreihen mit je 5 "100%-Wert-Ansätzen" parallel gemessen; genauso wurden 10 Inkubationswerte und je 10 Reaktivierungsansätze mit (E)-2-PAM in den Konzentrationen $2 \cdot 10^{-3}$ bzw. $1 \cdot 10^{-4}$ M parallel gemessen; dabei wurden folgende Abweichungen innerhalb von jeweils 5 Meßwerten festgestellt:

Blindwert = 100%-Wert: $\pm 2\%$ während einer Testzeit von 30 Min.

Inkubationswert: $\pm 1\%$ "Hemmgenauigkeit" bei 30 Min. Hemmzeit.

Reaktivierungswert: $\pm 3-5\%$ Reproduzierbarkeit der Reaktivie-

rungsrate, unabhängig von der eingesetzten Konzentration.

Tabelle 23:

Zusammensetzung der Meßansätze:

Hemmansatz:	1000 µl 0,1 M Na-Phosphatpuffer pH 7,4
	50 µl Substratlösung
	50 µl Reagenzlösung nach ELLMAN
	50 µl Inkubationslösung
	50 µl Aqua bidest.
Blindwertansatz:	1000 µl 0,1 M Na-Phosphatpuffer pH 7,4
(= 100%-Wert)	50 µl Substratlösung
	50 µl Reagenzlösung nach ELLMAN
	50 µl ungehemmte Enzymlösung
	50 µl Aqua bidest.
Reaktivatoransatz:	1000 µl 0,1 M Na-Phosphatpuffer pH 7,4
	50 µl Substratlösung
	50 µl Reagenzlösung nach ELLMAN
	50 µl Inkubationslösung
	50 µl Testsubstanzlösung
Spontan-Hydrolyse:	1000 µl 0,1 M Na-Phosphatpuffer pH 7,4
(des Substrates)	50 µl Substratlösung
	50 µl Reagenzlösung nach ELLMAN
	50 µl Testsubstanzlösung
	50 µl Aqua bidest.
Eigenhemmung:	1000 µl 0,1 M Na-Phosphatpuffer pH 7,4
(des Reaktivators)	50 µl Substratlösung
	50 µl Reagenzlösung nach ELLMAN
	50 µl ungehemmte Enzymlösung
	50 µl Testsubstanzlösung

L E B E N S L A U F

Geburtsdatum: 27. 06. 1949

Geburtsort: Rotenburg / Fulda

Eltern: jüngster von drei Söhnen des
Reinhardt Rieß, techn. Kaufmann,
und Lieselotte Rieß, geb. Riemann

Familienstand: verheiratet seit 01.03.74 mit
Gabriele Rieß, geb. Kropp;
ein Sohn, Christoph Rieß

Schulbildung: 1956 - 1960 Volksschule Köln-Mül-
heim, 1960 - 1966 Math.-naturw.
Gymnasium Köln-Mülheim, 1966 -
1969 Hansa-Gymnasium Köln-Mitte.

Reifeprüfung: 12. 06. 1969 in Köln

Bundeswehrzeit: 01.07.69 - 30.09.70 in Köln

Praktikantenzeit: 01.10.70 - 30.09.72 in der Marga-
reta-Apotheke in Köln-Ossendorf,
Dr. H. Twarock

Pharmaz. Vorexamen: 26.09.72 in Köln; vom 01.10.72 bis
15.04.73 Vertretungen in Köln (Frie-
sen-Apotheke und Humboldt-Apotheke)

Studium: SS 73 - WS 76/77 Universität Kiel

1. Staatsexamen: 24.04.75

2. Staatsexamen: 29.10.76

Approbation: 16.11.76

Assistententätigkeit:

ab 1. Dezember 1976 Beginn der vorliegenden Promotionsarbeit unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. H. Weber. Anstellung als wiss. Hilfskraft vom 01.12.1976 bis 31.05.1978. Vom 01.06.1978 bis 31.10.1980 angestellt als wiss. Angestellter am Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Düsseldorf. Niederschrift der vorliegenden Arbeit vom 01.11.1980 bis 31.05.1981.

Apothekentätigkeit:

Ab 01.06.1981 Planung und Vorbereitung zur Neugründung einer Apotheke im Raum Düsseldorf. Am 13.11.1981 Eröffnung der Rosen-Apotheke in Düsseldorf-Angermund. Seitdem dort tätig als Leiter und Besitzer.

